



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

MAESTRÍA EN REPRODUCCIÓN ANIMAL

“Influencia de las espículas peneanas del cobayo sobre el comportamiento sexual, valoración espermática y fertilidad del macho”

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGÍSTER EN
REPRODUCCIÓN ANIMAL**

**AUTOR: MVZ. Andrés Javier Almeida Herdoíza
C.I. 0105196182**

**DIRECTOR: Dr. Ermes Ramiro Rodas Carpio
C.I. 0102979424**

CUENCA, ECUADOR

2016



RESUMEN

Determinar la influencia de las espículas peneanas en los cobayos machos sobre el comportamiento sexual, fertilidad y valores espermáticos, fue el objetivo principal de este proyecto de investigación, para ello se incluyeron 10 cobayos machos de cinco meses de edad, peso promedio $988,3 \pm 11,40$ g y 40 hembras de cuatro meses de edad, peso promedio $815,3 \pm 11,80$ g, bajo las mismas condiciones de alimentación y mantenimiento. Cinco machos seleccionados al azar fueron extirpados quirúrgicamente las espículas peneanas. Un cobayo entero y un intervenido fueron mantenidos, como reemplazo en el caso de muerte de una unidad experimental y se los excluyó del procedimiento inicial. Se realizaron tres ensayos: en el primero se dividieron en dos tratamientos T1= 4 cobayos machos con espículas peneanas + 20 hembras en jaulas separadas, T2= 4 cobayos machos extirpados las espículas peneanas + 20 hembras en jaulas separadas. Se analizó durante ocho días consecutivos el comportamiento sexual por observación directa de los cobayos en cada jaula. Para el segundo ensayo los mismos tratamientos T1 y T2, permanecieron por treinta días en empadre, para evaluación de la fertilidad. Finalmente en el último ensayo se analizaron parámetros espermáticos, por medio de la extirpación quirúrgica de los testículos y disección del epidídimo de los cobayos en estudio, para este ensayo se incluyeron los cobayos de reemplazo. El diseño experimental que se utilizó en la investigación fue un diseño completamente al azar, las pruebas de significación fueron, T de Student, prueba de Shapiro Wilk, para el análisis de homogeneidad de varianza se utilizó la técnica de Levene y se realizó el análisis de medias repetidas, todo esto con el programa SPSS para Windows versión 22®. Los parámetros de comportamiento sexual, olfateos, mordiscos y montas fueron similares ($P > 0,05$), el número promedio de



acicalamientos fue mayor en el grupo de machos enteros en relación al grupo sin espículas ($P<0,05$). El grupo de hembras que fueron copuladas por cobayos enteros quedaron preñadas un 65% más en comparación con las hembras que fueron cubiertas por los machos extirpados las espículas ($P<0,01$). No se encontraron diferencias significativas en los análisis de parámetros seminales de los machos en estudio. Por lo tanto se concluye que la remoción de las espículas peneanas influye en la fertilidad, pero no en el comportamiento sexual y los valores espermáticos.

PALABRAS CLAVES: COBAYOS, ESPÍCULAS PENEANAS, COMPORTAMIENTO SEXUAL, FERTILIDAD, PARÁMETROS ESPERMÁTICOS.



ABSTRACT

The study determined the influence of penile spicules on sexual behavior, fertility and sperm quality parameters in guinea pigs (*Cavia porcellus*). For this research 10 male guinea pigs five months old, average weight 988.3 ± 11.40 g were included. 40 females and four months old, average weight 815.3 ± 11.80 g, under the same conditions of supply and maintenance. Five randomly selected males were removed surgically penile spicules. A guinea pig without spicules and other normal were kept, as a replacement in case of death of an experimental unit and were excluded from the initial procedure. Three tests were performed: in the first were divided into two treatments; T1 = 4 male guinea pigs with penile spicules + 20 females in separate cages, T2 = 4 male guinea pigs removed penile spicules + 20 females in separate cages. Sexual behavior by direct observation of the guinea pigs in each cage was analyzed for eight consecutive days. For the second test, the same treatments T1 and T2, remained for thirty days in breeding, for fertility evaluation. Finally in the last test sperm parameters were analyzed by means of surgical removal of the testes and epididymis dissection of the guinea pigs under study, for this test replacement guinea pigs were Included. A completely randomized experimental design was used in this project. Significance tests were, T-test, Shapiro Wilk test for homogeneity analysis of variance technique was used Levene and analysis of repeated measures was performed, all with SPSS for Windows version 22®, The parameters of sexual behavior, sniffing, biting and matings were similar ($P > 0.05$), the average number of preening was higher in the group of boars in relation to extirpated group ($P < 0.05$). The group of females that were mated for guinea pigs without intervention, became pregnant 65% more, compared with females that were covered by the males removed spicules ($P < 0.01$). No significant difference in the analysis of seminal



parameters studied males was found. Therefore it is concluded that the removal of the penile spicules influences fertility, but not in the sexual behavior and spermatic values.

KEYWORDS: GUINEA PIGS, PENILE SPICULES, SEXUAL BEHAVIOR, FERTILITY, SPERM PARAMETERS.



LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía del cobayo	20
Tabla 2. Parámetros productivos y reproductivos del cuy	39
Tabla 3. Valores seminales promedio en cobayos	51
Tabla 4. Cuadro de anestésicos para roedores	61
Tabla 5. Dosis de analgésicos para cobayos.	65
Tabla 6. Media y error estándar de los parámetros de calidad espermática.	82

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1. Irrigación sanguínea del útero de cobaya.	22
Fig. 2. Sistema reproductivo del cobayo hembra.....	23
Fig. 3. Anatomía macroscópica e histológica de los tejidos uterinos y cervicales del cobayo.....	24
Fig. 4. Vista anatómica del glándula del cuy	26
Fig. 5. Vistas del glándula	26
Fig. 6. Aparato reproductor masculino del cobayo	28
Fig. 7. Corte transversal del glándula y del proceso estiloide.....	29
Fig. 8. Glándulas accesorias del aparato genital del cobayo macho (Cavia porcellus).....	30
Fig. 9. Mecanismo fisiológico de la lordosis.....	48
Fig. 10. Ilustración para realizar una extensión o frotis de semen.....	53
Fig. 11. Forma de realizar el diagnóstico de gestación en cobayas por palpación... ..	56
Fig. 12. Ubicación geográfica del experimento.....	69
Fig. 13. Distribución de las unidades experimentales para el análisis de comportamiento sexual y porcentaje de preñez.	78
Fig. 14. Distribución de las unidades experimentales para la valoración espermática.....	79



Fig. 15. Media del número de acicalamientos, olfateos, mordiscos y montas realizadas por los machos a sus compañeras de jaula en los dos tratamientos... 80

Fig. 16. Porcentaje de preñez de las hembras que fueron copuladas por los machos de los dos tratamientos..... 81

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Datos de comportamiento sexual jaula 1.....	94
Anexo 2. Datos de comportamiento sexual jaula 4.....	94
Anexo 3. Datos de comportamiento sexual jaula 6.....	94
Anexo 4. Datos de comportamiento sexual jaula 8.....	94
Anexo 5. Datos de comportamiento sexual jaula 2.....	95
Anexo 6. Datos de comportamiento sexual jaula 3.....	95
Anexo 7. Datos de comportamiento sexual jaula 5.....	95
Anexo 8. Datos de comportamiento sexual jaula 7.....	95
Anexo 9. Registro de gestaciones y crías nacidas.	96
Anexo 10. Espermiogramas de cobayos enteros.	96
Anexo 11. Espermiogramas de cobayos extirpados.....	97
Anexo 12. Matriz para el registro de conducta sexual de cobayos.....	98
Anexo 13. Matriz para el registro de gestaciones.....	99
Anexo 14. Matriz para el registro de valores seminales.	99
Anexo 15. Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra (comportamiento sexual).....	100
Anexo 16. Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra (fertilidad y prolificidad).....	100
Anexo 17. Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra (valoración espermática).....	101
Anexo 18. Instrumental quirúrgico.	102
Anexo 19. Balanza.	102
Anexo 20. Pesaje de cobayos.	103
Anexo 21. Anestésico Zoletil 50 ®.....	103



Anexo 22. Dosificación de anestésico.	104
Anexo 23. Aplicación subcutánea de anestésico.....	104
Anexo 24. Depilación de la zona a intervenir.....	105
Anexo 25. Preparación de campos quirúrgicos.	105
Anexo 26. Embrocado de la zona a intervenir.	106
Anexo 27. Exposición del pene.	106
Anexo 28. Exposición de las espículas.....	107
Anexo 29. Extirpación de las espículas.	108
Anexo 30. Retorno del pene a su posición anatómica.....	109
Anexo 31. Postoperatorio de los cobayos.	110
Anexo 32. Jaulas de madera para alojamiento de unidades experimentales.	110
Anexo 33. Distribución aleatoria de las unidades experimentales en las jaulas.	111
Anexo 34. Medios para la conservación y centrifugación de espermatozoides.....	112
Anexo 35. Muestra espermática y solución Cushion fluid ®.	112
Anexo 36. Centrifuga con muestras espermáticas.	113
Anexo 37. Fotómetro SDM 1, minitube.....	113
Anexo 38. Análisis de motilidad masal.	114
Anexo 39. Análisis de motilidad individual.....	114



TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	1
ABSTRACT	3
LISTA DE TABLAS	5
LISTA DE FIGURAS.....	5
LISTA DE ANEXOS.....	6
TABLA DE CONTENIDOS	8
DERECHOS DE AUTOR.....	12
AGRADECIMIENTOS.....	14
DEDICATORIA	15
CAPITULO I: INTRODUCCIÓN.....	16
OBJETIVOS	17
Objetivo general	17
Objetivos específicos.....	17
HIPÓTESIS	18
CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 Generalidades	19
2.2 Taxonomía.....	20
2.3 Anatomía del aparato reproductor del cobayo hembra	20
2.3.1 Ovarios y Oviductos	20
2.3.2 Útero	22
2.3.3 Vagina.....	23
2.4 Anatomía del aparato reproductor del cobayo macho	24
2.4.1 El pene.....	24
2.4.2 Glándulas.....	27
2.4.2.1 El saco intromitente.....	27
2.4.3 Testículos.....	29
2.4.4 Epidídimo	29
2.4.5 Glándulas accesorias	30
2.4.5.1 Próstata.....	31
2.4.5.2 Glándulas vesiculares	31
2.4.5.3 Glándulas coaguladoras	32



2.4.5.4 Glándulas Bulbouretrales	32
2.5 Función de las espículas peneanas.....	32
2.6 Fisiología reproductiva del cobayo hembra	33
2.6.1 Generalidades	33
2.6.2 Ciclo estral de la cobaya	34
2.6.2.1 Proestro	34
2.6.2.2 Estro o calor	35
2.6.2.3 Metaestro	35
2.6.2.4 Diestro.....	35
2.6.2.5 Fenómenos Físicos del período de celo	35
2.6.3 Crecimiento folicular en las cobayas	36
2.6.4 Fertilización	37
2.6.5 Implantación	37
2.6.6 Gestación	37
2.6.7 Parto.....	38
2.6.8 Parámetros reproductivos	38
2.7 Fisiología reproductiva del cobayo macho.....	39
2.7.1 Espermatogénesis en el cobayo	41
2.7.2 Áreas cerebrales que estimulan el comportamiento sexual del cobayo macho	45
2.7.3 Comportamiento sexual y cortejo del cobayo.....	46
2.8 Método para colecta de semen de cobayo	49
2.8.1 Electroeyaculación	49
2.8.2 Método de difusión para obtener muestras espermáticas en roedores	49
2.9 Características seminales.....	50
2.9.1 Tapón vaginal.....	50
2.9.2 Capacitación espermática	50
2.9.3 Morfología y motilidad espermática	51
2.9.4 Valores seminales promedio	51
2.10 Evaluación microscópica del Semen de Cobayo	51
2.10.1 Motilidad Masal	51
2.10.2 Motilidad individual	52
2.10.3 Morfología	52




2.10.4 Concentración	53
2.11 Empadre	54
2.11.1 Sistemas de empadre.....	54
2.11.1.1 Empadre continuo	54
2.11.1.2 Empadre post destete	55
2.11.1.3 Empadre Controlado	55
2.12 Diagnóstico de preñez	55
2.13 Experimentación en animales de laboratorio (bioética)	57
2.13.1 Cirugía en animales de laboratorio.....	59
2.13.1.1 Instalaciones para realizar la cirugía	59
2.13.1.2 Planificación y preparación del animal	59
2.13.2 Analgesia y anestesia en cobayos	59
2.13.2.1 Anestesia	59
2.13.3 Cirugía experimental del aparato reproductor en animales de laboratorio .	65
2.13.4 Roedores como modelos de experimentación	66
2.13.4.1 Consideraciones de la cirugía genital experimental	66
2.13.4.2 Manipulación de tejidos.....	66
CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS.....	68
3.1 Materiales	68
3.1.1 Materiales de campo	68
3.1.2 Materiales Químicos.....	68
3.1.3 Materiales biológicos.....	68
3.1.4 Materiales de laboratorio	68
3.2 Métodos.....	69
3.2.1 Ubicación geográfica	69
3.2.2 Población y muestra	70
3.2.3 Criterios de inclusión y exclusión	70
3.2.4 Procedimiento experimental	71
3.2.4.1 Extirpación quirúrgica de las espículas peneanas	71
3.2.4.2 Análisis del comportamiento sexual de los sujetos experimentales	73
3.2.4.3 Evaluación de la fertilidad	74
3.2.4.4 Evaluación seminal en las unidades experimentales	74



3.2.5 Variables en estudio	77
3.2.6 Diseño experimental y análisis estadístico	78
CAPITULO IV: RESULTADOS	80
4.1 Valoración del comportamiento sexual	80
4.2 Valoración de fertilidad (porcentaje de preñez)	81
4.3 Valoración de calidad espermática	82
CAPITULO V: DISCUSIÓN	83
CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	87
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89
ANEXOS.....	94


DERECHOS DE AUTOR



Universidad de Cuenca
Clausula de derechos de autor

Andrés Javier Almeida Herdoíza, autor de la tesis "*Influencia de las espículas peneanas del cobayo sobre el comportamiento sexual, valoración espermática y fertilidad del macho*", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Magíster en reproducción Animal. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 30 de mayo de 2016



Andrés Javier Almeida Herdoíza
C.I.: 0105196182



Universidad de Cuenca
Clausula de propiedad intelectual

Andrés Javier Almeida Herdoíza, autor de la tesis *"Influencia de las espículas peneanas del cobayo sobre el comportamiento sexual, valoración espermática y fertilidad del macho"*, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 30 de mayo de 2016.

Andrés Javier Almeida Herdoíza

C.I: 0105196182



AGRADECIMIENTOS

Quiero extender mi más sincero agradecimiento, al Dr. Luis Eduardo Ayala, por su apoyo incondicional para la realización de este proyecto de investigación. Al Dr. Ramiro Rodas, como Director de esta investigación. Al Dr. Leonardo Vázquez, por su aporte con las instalaciones de la clínica veterinaria "GUAF", fundamentales para el desarrollo de este proyecto de investigación. Al Ministerio de Agricultura Ganadería, Acuacultura y Pesca del Azuay en las personas del Ing. Javier Serrano Salgado Coordinador Zonal 6 y la Dra. Emma Mora Andrade Directora Provincial, quienes gracias a su apoyo, me permitieron alcanzar esta meta profesional en mi vida.

Andrés Javier Almeida Herdoíza



DEDICATORIA

Quiero dedicar esta investigación a mi esposa y compañera de vida María de la Paz Segovia, quién ha sido el pilar fundamental para alcanzar mis objetivos y a mis padres Gerardo Almeida y Guadalupe Herdoíza, por su apoyo incondicional y por ser un ejemplo de disciplina, constancia y amor.

Andrés Javier Almeida Herdoíza



CAPITULO I: INTRODUCCIÓN

El cobayo cuando alcanza la pubertad presenta agresividad social fruto del cambio hormonal que experimenta, esto ocasiona peleas entre los individuos de jaula, lo que provoca heridas en la piel que pueden infectarse y reducir la productividad de la canal. Como medida a esta agresividad se ha estudiado alternativas como la castración quirúrgica, química o física (traumática), cada una de las técnicas antes mencionadas tienen desventajas que generan resistencia entre los productores al momento de utilizarlas; sin embargo, a nivel de campo para disminuir esta agresividad como técnica ancestral se realiza la extirpación de las espículas peneanas, lamentablemente, la información que existe sobre esta práctica y su influencia sobre el comportamiento social durante la cópula (sexual), calidad espermática y fertilidad es escasa (Apráez, Fernández, & Hernández, 2010).

Girling (2003), describió que el cobayo posee en la base del pene en posición ventral a la uretra, dos estructuras invaginadas denominadas espículas peneanas, misma que cuando el pene se encuentra erecto se proyectan como dos espinas delgadas de aproximadamente 4-5 mm de longitud desde el extremo del glande, no obstante su función se desconoce, lo cual es corroborado por el libro de Suckow (2012).

Es importante mencionar que estas espículas en otros roedores actúan como órganos sensitivos accesorios, provocando sensibilidad genital en el macho, o pueden proporcionar un estímulo adicional para el tracto femenino provocando la ovulación. (Stoddart, 1979).

Por lo tanto el presente trabajo de investigación busca determinar la influencia de las espículas peneanas en los cobayos machos sobre el comportamiento sexual en



machos enteros como extirpados las espículas, la fertilidad de las hembras cubiertas por machos extirpados estas estructuras frente a aquellas que fueron reproducidas por machos enteros y valores espermáticos en ambos casos; este conocimiento permitirá brindar una herramienta alternativa a los criadores de cobayos para la crianza de machos en grupo. Además de brindar un aporte científico a la comprensión del proceso reproductivo en esta especie.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la influencia de las espículas peneanas en los cobayos machos, sobre el comportamiento sexual, fertilidad y valores espermáticos.

Objetivos específicos

- Caracterizar el comportamiento sexual durante el cortejo y la cópula del cobayo entero y extirpado las espículas peneanas
- Valorar la calidad espermática epididimária: Vitalidad Espermática (VE), Anormalidades Espermáticas (AE) y Motilidad Individual Progresiva (MIP) de los cobayos en estudio
- Evaluar la fertilidad de los machos en estudio con base en el porcentaje de preñez de las hembras apareadas con estos.



HIPÓTESIS

Las espículas peneanas en los cobayos machos, influyen en el comportamiento sexual, la fertilidad y los valores espermáticos.



CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Generalidades

El cobayo es un mamífero roedor, originario de la zona andina principalmente de países como Bolivia, Ecuador, Perú y Colombia, en donde es considerado como una fuente rica de alimento en las comunidades de estas regiones del continente. Así mismo el cobayo está identificado en las costumbres de las sociedades indígenas en donde es utilizado en tratamientos de medicina ancestral, incluso en rituales religiosos. (Chauca, 1997).

El cobayo se caracteriza por poseer un ciclo reproductivo corto, con una importante adaptabilidad a gran variedad de ecosistemas y pisos climáticos. En varias partes del mundo son criados como mascotas, no obstante gracias a su característica de precocidad y prolificidad en la región andina, se lo cría como productor de carne (Chauca, 1997).

No obstante el cobayo ha sido utilizado alrededor del mundo como un animal de laboratorio especialmente en investigaciones biomédicas, para enfermedades como la tuberculosis, o como un modelo para la investigación de técnicas de reproducción asistida en seres humanos (Gregorie, *et al.*, 2005).



2.2 Taxonomía

Tabla 1. Taxonomía del cobayo

Reino	Animal
Filo	<i>Cordata</i>
Subfilo	<i>Craniata</i>
Clase	<i>Mammalia</i>
Subclase	<i>Theira</i>
Infraclase	<i>Eutheria</i>
Orden	<i>Rodentia</i>
Suborden	<i>Hystricomorpha</i>
Superfamilia	<i>Cavioidae</i>
Familia	<i>Caviidae</i>
Subfamilia	<i>Caviinae</i>
Género	<i>Cavia</i>
Especie	<i>C porcellus</i>

Fuente Wagner, (2014)

2.3 Anatomía del aparato reproductor del cobayo hembra

2.3.1 Ovarios y Oviductos

Los ovarios son de color blanco amarillento, tienen forma oval ligeramente aplanada, están presentes de forma caudal al polo ventral del riñón, poseen un tamaño aproximado de 3-6 x 2-4 x 2-3 mm. Los oviductos se proyectan lateralmente a la bolsa ovárica hacia el mismo extremo del cuerno uterino, tienen unos 6 mm de largo y 1mm de diámetro, poseen un gran infundíbulo (Bitzinger, 2008).

El oviducto se puede dividir en 3 partes; una porción infundibular cerca del ovario; una porción correspondiente al istmo y una porción intramural que penetra en la pared uterina. El oviducto posee fimbrias largas en su apertura abdominal que están



cubiertas por un epitelio columnar ciliado. El istmo del oviducto está cubierto por un epitelio columnar pseudoestratificado y células ciliadas. La porción intramural del oviducto está forrado con un epitelio columnar simple. La lámina propia consiste en una capa delgada de tejido conectivo y una capa llamada muscularis de músculo liso dispuestas circularmente (Wagner, 2014).

La irrigación sanguínea de los ovarios se da a través de las arterias ováricas, originadas a partir de la aorta a nivel del origen de las arterias renales, o como ramas de las arterias renales, por troncos comunes con las arterias renales. Las ramas de ovario y las trompas forman bobinas en espiral en torno a su eje longitudinal cuando se acercan al ovario (Hossain & O'shea, 1983).

El drenaje venoso del ovario se da a través de varias venas pequeñas. En el hilio generalmente se unen con un gran afluente del útero para formar una sola vena ovárica correspondiente a la arteria ovárica. Estas venas están en contacto cercano con las arterias correspondientes. En el pedículo ovárico, las ramas arteriales ováricas comúnmente se encuentran en espiral alrededor de los afluentes venosos ováricos. La vena ovárica derecha finalmente se une a la vena cava y la vena ovárica izquierda se abre en la vena renal izquierda (Hossain & O'shea, 1983).

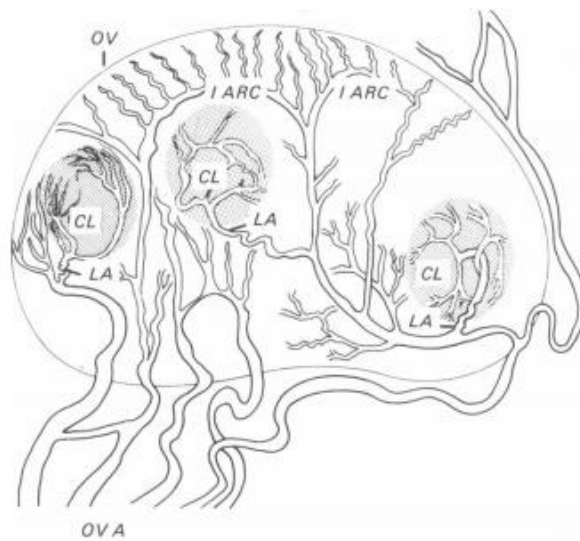


Fig. 1. Irrigación sanguínea del útero de cobaya.

Fuente: Hossain & O'shea, (1983).

2.3.2 Útero

Los cuernos uterinos se suspenden por los ligamentos anchos de la pared abdominal dorso lateral. El cuerpo uterino es de unos 12 mm de longitud y unos 10 mm de diámetro, disminuyendo en tamaño de craneal a caudal. El cuerpo posee unos 45 mm de longitud debido a un ligamento intercornual bien desarrollado. Los cuernos uterinos se unen en el cuello uterino y la cervix los abre a la vagina. El cuello del útero se caracteriza por una serie de pequeñas crestas de mucosa que se extienden caudo medial a sus paredes laterales para converger en la línea media ventral. El cuello del útero es de unos 25 mm de largo, aproximadamente 14 mm de diámetro cranealmente y 5 mm de diámetro en su extremo caudal. El epitelio del útero se eleva en pliegues que están bien abastecidos por los vasos sanguíneos y los nervios. El epitelio columnar es simple y está organizado en glándulas tubulares ramificadas que se proyectan en la lámina propia subyacente que se compone de tejido reticular. El miometrio se compone de capas longitudinales y circulares de músculo liso, separados por una capa altamente vascular de tejido conectivo laxo.

La porción caudal del cuerpo del útero, el cuello uterino y el canal vaginal se alinean con un epitelio escamoso estratificado que es continua a través del orificio vaginal con el de la piel (Wagner, 2014).

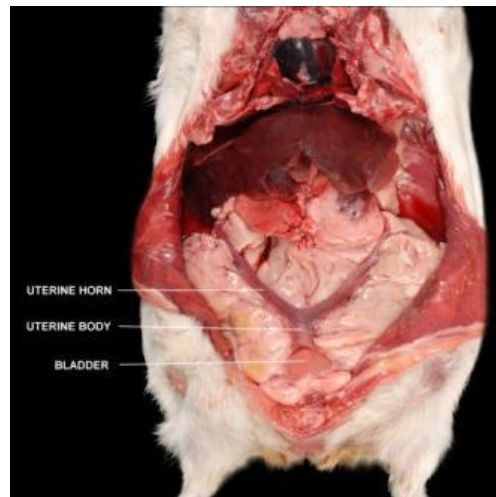


Fig. 2. Sistema reproductivo del cobayo hembra.

Fuente: Bishop, (2000).

2.3.3 Vagina

La vagina es más pequeña en su diámetro exterior que el cuello del útero y tiene paredes más delgadas. Se encuentra en la porción caudal del suelo pélvico y ventralmente alrededor del margen caudal del arco isquiático donde se abre al exterior en el orificio vaginal. El clítoris se encuentra dentro de una fosa poco profunda en el suelo de la porción caudal de la vagina. El orificio uretral se ve en la superficie caudal de la fosa del clítoris (Wagner, 2014).

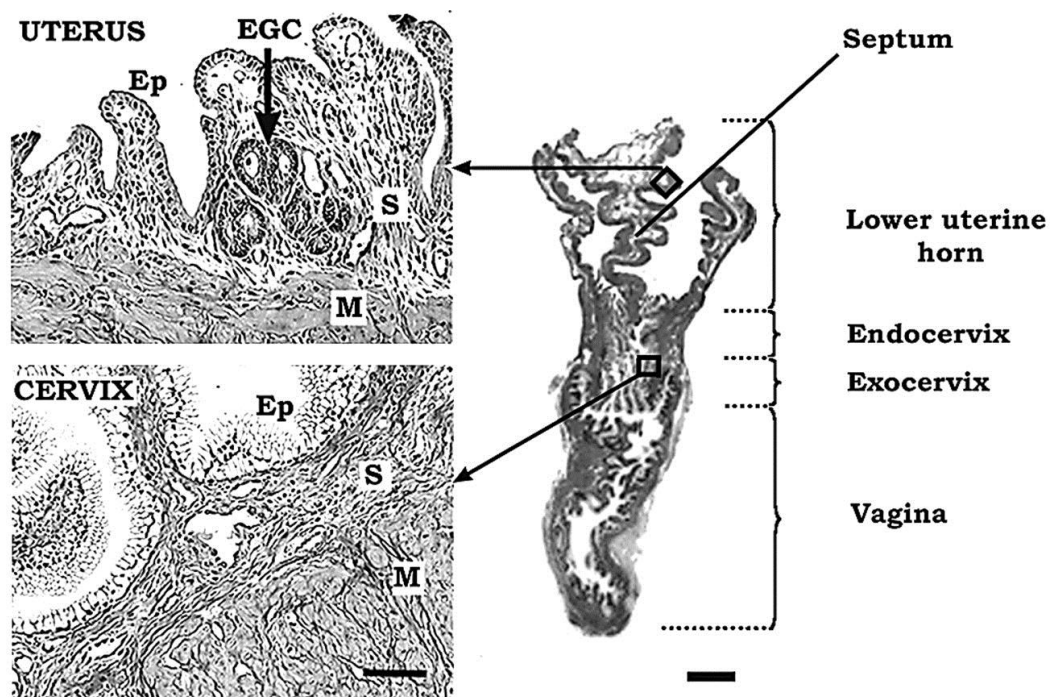


Fig. 3. Anatomía macroscópica e histológica de los tejidos uterinos y cervicales del cobayo. S sub-epitelio, M capa muscular, Ep epitelio, EGC, células de las glándulas endometriales.

Fuente: Rodríguez *et al.*, (2013)

2.4 Anatomía del aparato reproductor del cobayo macho

El sistema reproductor masculino se compone de pene, testículos, epidídimo, conductos deferentes, la uretra, glándulas vesiculares, próstata, glándulas coagulantes y glándulas bulbouretrales.

2.4.1 El pene

“El órgano copulador del cobayo macho cuando se encuentra en reposo presenta una forma de herradura con el glande dirigido hacia caudal; el glande es de forma cilíndrica con su extremo redondeado, en la superficie dorsal presenta una fisura media en sentido longitudinal y otra más corta en transversal en donde se abre el orificio uretral externo. La superficie externa del glande está poblada de pequeñas escamas córneas de borde libre convexo, agudo, acompañado de diminutas



espículas dirigidas en craneal. En la superficie dorsal y ventrolateral se observan la presencia de escamas alargadas y desarrolladas de borde libre convexo y aserrado con espículas dirigidas en sentido dorso craneal. Internamente el saco del glande se sitúa dorsal a la uretra peneana, su pared interna presenta ligeros pliegues longitudinales poblada de escamas transversales. En el interior del saco del glande se observan además un par de procesos estiloides o llamados espinas peneanas, de naturaleza córnea que se originan en la base del saco. Con la edad las escamas desarrollan el extremo de los procesos estiloides se agudizan, se vuelven divergentes y en algunos casos asimétricos. El hueso del pene es de forma alargada y comprimido dorsoventralmente; se relaciona internamente a la superficie ventral del glande. El pene presenta la túnica albugínea delgada, los cuerpos cavernosos y esponjosos están ligeramente desarrollados lo cual permite una ligera erección por turgencia. El proceso de erección corresponde mayormente al alargamiento con pérdida de la disposición de herradura del pene gracias a la contracción del músculo isquiocavernoso, el cual dirige al glande hacia delante. Un tercer mecanismo está dado por la turgencia del glande y evaginación del saco del glande acompañado de los procesos estiloides. El glande presenta un epitelio de transición no queratinizado, con células de forma ovoide, las cuales asientan sobre un tejido conectivo laxo vascularizado. El saco del glande está tapizado internamente por un epitelio de transición, formado por células epiteliales, que se proyectan a la luz del saco, recubiertos por una capa definida de queratina. El par de procesos estiloides presentan al corte transversal, un grueso estrato córneo compuesto por capas de queratina, que asienta sobre capas de células epiteliales. A nivel del tercio proximal del cuerpo del pene al corte transversal, se observan dos formaciones simétricas a manera de cuerdas del saco del glande, formadas por tejido conjuntivo denso

regular, cada una con una vénula en posición medial y una arteriola en lateral. Estas se encuentran rodeadas por tejido conjuntivo laxo y más externamente por músculo liso. El os penis está formado por tejido óseo esponjoso y en la matriz se observan osteocitos ocupando sus respectivas lagunas” (Marquez, Valencia, Chauca, & Torres, 2008).

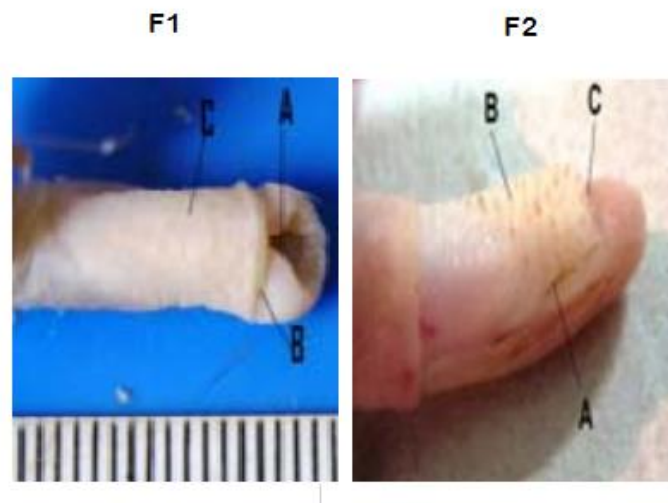


Fig. 4. Vista anatómica del glande del cuy (F1) vista dorsal; (A) fisura media, (B) fisura transversa, (C) escamas dorsales. (F2) vista lateral izquierda; (A) escamas laterales (B) escamas dorsales, (C) fisura transversa.

Fuente: Márquez et al,(2008).

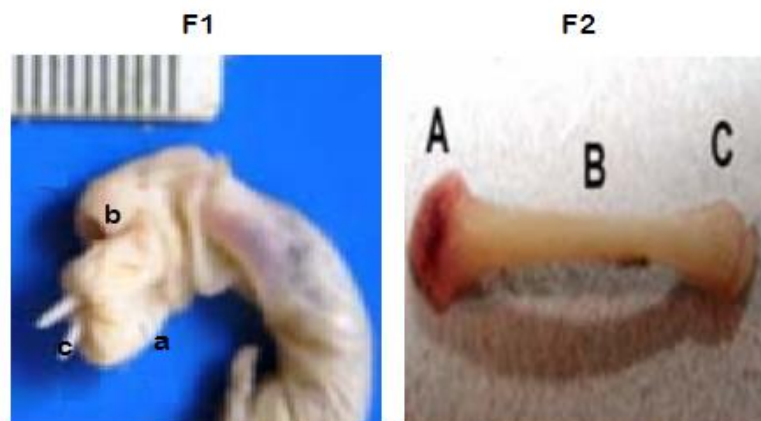


Fig. 5. Vistas del glande; (F1) vista lateral izquierda del glande; (a) saco del glande, (b) orificio uretral, (c) procesos estiloides (espículas). (F2) vista dorsal del os penis del cobayo; (A) extremidad caudal, (B) cuerpo del os penis, (C) extremidad craneal.

Fuente: Márquez et al, (2008).



2.4.2 Glande

En general el glande de los roedores caviomorfos, en los que se incluye el cobayo, posee dos aberturas externas distales, una dorsal y una ventral que corresponden al meato urinario y al saco intromitente respectivamente (Spotorno, 1979).

2.4.2.1 El saco intromitente

En la mayoría de roedores y marsupiales, el pene durante los intervalos de inactividad sexual permanece retraído dentro de un pliegue eversible de piel, situado debajo de la abertura anal. Esta apertura en forma de saco dérmico formado por la retracción del pene, sólo existe cuando el pene está en inactividad. Si se abre este saco, el pene se ve acostado en ella con el glande dirigido hacia atrás. Dorsal a la abertura de la uretra se puede observar el saco intromitente. Al realizar una incisión ventral del saco se encuentran dos espículas o espinas, que poseen una amplitud en su base de 1 mm y una longitud de 5 mm. Dos pliegues longitudinales dorsales son también visibles y estos se observan como prolongaciones de los labios laterales de la abertura uretral; el labio ventral de este último consta de un cuerpo esponjoso no modificado; anexo en la base de este último y en la misma línea recta con las espinas peneanas, se encuentran los tendones retractores del saco intromitente. Histológicamente el saco intromitente posee una estructura homogénea en todas partes. Su revestimiento posee numerosos pliegues y papilas. Por su parte las dos espinas eréctiles son dos papilas modificadas con una conformación histológica similar. La mucosa de la cavidad del saco, posee una fina capa de escamas córneas superficiales debajo de la cual se encuentra una zona recubierta de fibras córneas de una estructura homogénea, excepto en los vértices de las espinas eréctiles, donde la capa se parece bastante a una superficie de muco-cartilaginosa, que tiene cavidades que a veces albergan células granulares. Las células más superficiales se

aplanan considerablemente y tienen sus paredes celulares poco definidas, pero más centralmente las células se fusionan entre sí para formar una matriz erétil. Los tendones del saco intromitente poseen una estructura única. En el exterior hay una capa bastante gruesa de tejido conectivo areolar. Las fibras se extienden transversalmente y los núcleos están bien marcados (Cole, On the Structure and Morphology of the intromittent Sac of the male Guinea-Pig, 1987).

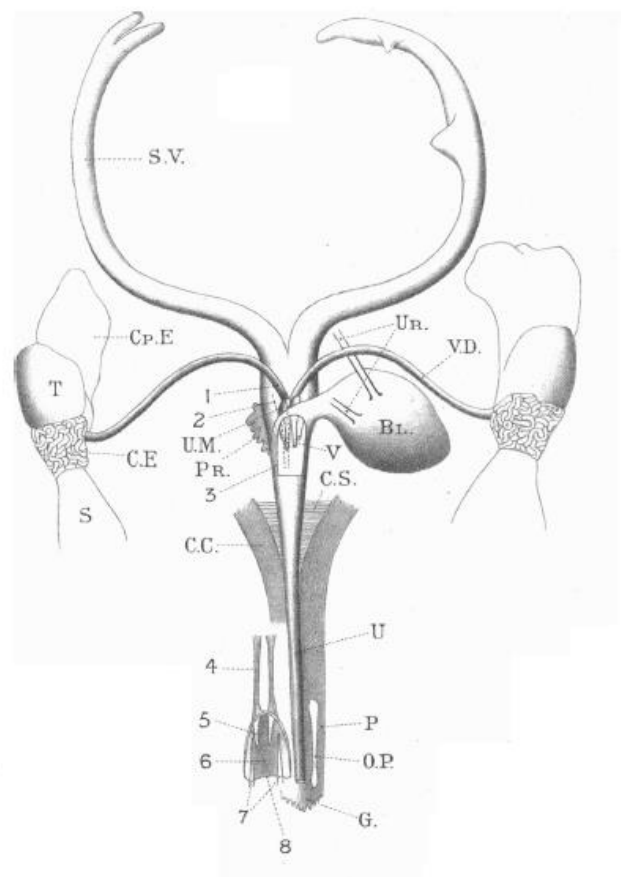


Fig. 6. Aparato reproductor masculino del cobayo: B1 Vejiga, CC cuerpo cavernoso del pene, CE porción caudal del epidídimo, Cp.E grasa del epidídimo, C.S cuerpo esponjoso, G glande, O.p os penis, P pene, Pr próstata, S saco escrotal, S.V vesícula seminal, T testículos, U uretra, Ur uréteres, v Verumontanum, V.D conducto deferente, 1 apertura del conducto deferente, 2 apertura de la vesícula seminal, 3 pared ventral de la uretra, 4 tendón, 5 espinas peneanas eréctiles, 6 saco intromitente, 7 apertura uretral, 8 labio del saco intromitente.

Fuente: Cole, (1987).

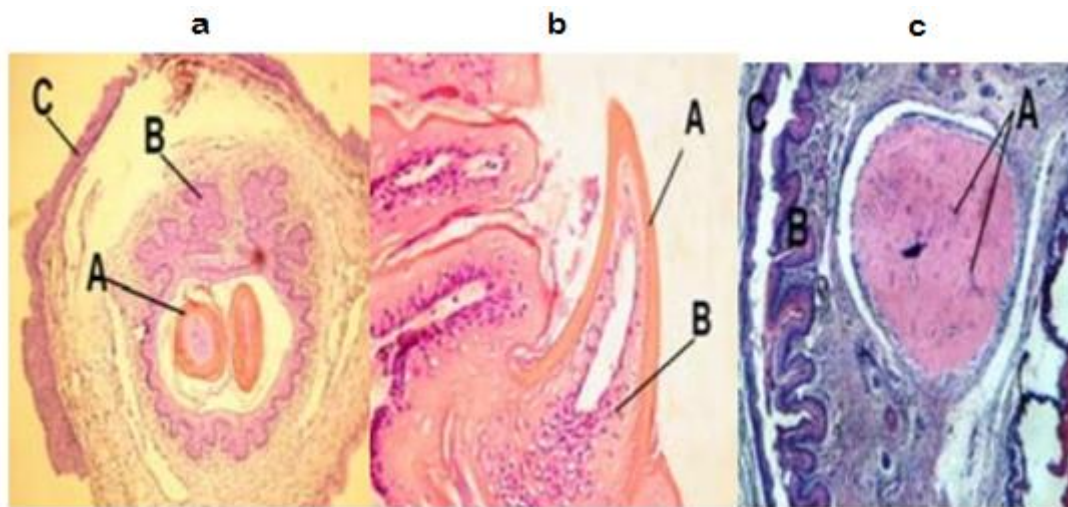


Fig. 7. Corte transversal del glande y del proceso estiloide. (a) corte transversal del glande 10x. A capas de queratina de los procesos estiloides. B epitelio de transición .del saco del glande. C epitelio de transición de la mucosa del glande; (b) corte longitudinal del proceso estiloide40x. A capas de queratina. B células epiteliales. (c) os penis10x. A osteocitos y lagunas. B mucosa del glande. C mucosa del prepucio.

Fuente: Márquez, *et al*, (2008).

2.4.3 Testículos

Los testículos se ubican en la región perineal a ambos lados de la apertura de la uretra, poseen un diámetro de 20-30 mm. Se encuentran recubiertos de tejido adiposo, poseen una forma ovoide y se encuentran en contacto con la musculatura ventral de la pared abdominal y la piel. En condiciones normales los testículos del cobayo permanecen retraídos dentro del canal inguinal (Florin, 2015).

2.4.4 Epidídimo

El epidídimo consta de tres porciones, cabeza, cuerpo y cola. La cabeza se caracteriza por permanecer muy enrollada y recubierta por tejido adiposo y se extiende con el cuerpo del epidídimo ventralmente a los conductos deferentes. La cola por su parte se caracteriza por su excesivo enrollado, se continúa con los conductos deferentes que poseen un diámetro de 1-2 mm en su inicio y a medida

que continúan avanzando aumenta su diámetro a unos 2.5 mm hasta finalmente desembocar en la uretra (Florin, 2015).

2.4.5 Glándulas accesorias

En general las glándulas accesorias del aparato reproductor de los mamíferos y en particular la próstata y glándulas vesiculares, se caracterizan porque su función depende de varios estímulos androgénicos y factores ambientales que puede regular la actividad de las mismas.

Las glándulas accesorias en el cobayo están compuestas por dos glándulas bulbouretrales; una próstata, dos glándulas coaguladoras y dos glándulas vesiculares (Vásquez & Del Sol, 2010).

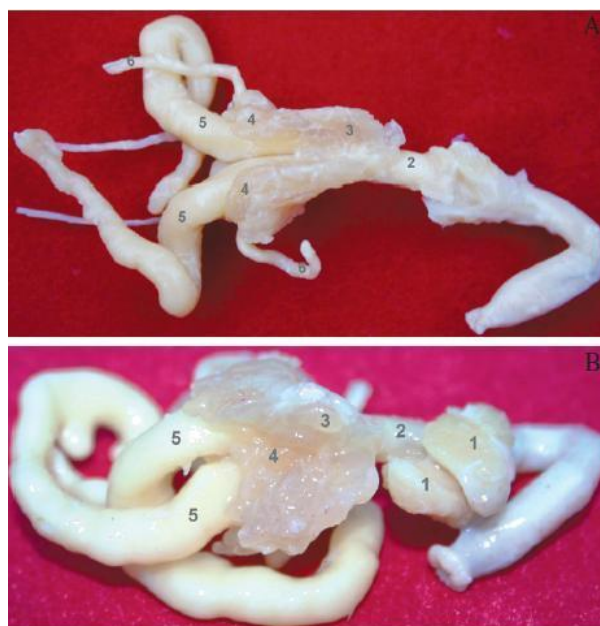


Fig. 8. Glándulas accesorias del aparato genital del cobayo macho (*Cavia porcellus*). 1. Glándulas bulbouretrales; 2. Uretra; 3. Próstata; 4. Glándulas coaguladoras; 5. Glándulas vesiculares; 6. Conductos deferentes.

Fuente: Vásquez & Del Sol, (2010).



2.4.5.1 Próstata

Dorsal a la uretra se encuentra la próstata en el cobayo, misma que se encuentra constituida por una masa de tejido glandular, recubierta por una capa de tejido fibroso; su tamaño es de aproximadamente 20 mm de largo x 15 mm de ancho con peso aproximado de 0.9 g. Presenta un surco en su cara dorsal que divide la glándula en dos lóbulos; de cada uno de ellos emergen entre 8 y 10 conductos excretores que desembocan caudalmente a las glándulas vesiculares y conductos deferentes. La próstata está compuesta por numerosas unidades túbulo-alveolares redondeadas o poligonales, rodeadas por escaso tejido conjuntivo denso y abundantes fibras musculares lisas. El epitelio secretor se compone por células cubicas en un solo estrato, cuyos núcleos redondos u ovales, ocupan una posición central. En aquellas zonas glandulares que contienen menor cantidad de secreción en el interior de la unidad glandular, se observan proyecciones digitiformes de mayor tamaño hacia la luz (Vásquez & Del Sol, 2010).

2.4.5.2 Glándulas vesiculares

Son dos estructuras lóbulo-tubulares de aproximadamente 100 mm de longitud con un peso de 1.5 g. Se localizan sobre la cara dorsal de la uretra, relacionándose ventralmente con los conductos deferentes y la cara dorsal de la vejiga. La porción más caudal de las glándulas vesiculares, están cubiertas por la cara ventral de las glándulas coaguladoras, haciendo difícil la visualización de los conductos excretores de cada glándula vesicular. Estos conductos desembocan un tanto craneal y medialmente a los conductos prostáticos y los de la glándula coaguladora y, levemente caudal a los conductos deferentes en la uretra (Vásquez & Del Sol, 2010).



2.4.5.3 Glándulas coaguladoras

Son glándulas pares que poseen una forma piramidal lobulada de color marrón-rosado; se encuentran en estrecho contacto con las vesículas seminales, el lóbulo dorsal se encuentra craneal a la próstata y caudal a la uretra. Cada lóbulo posee cuatro conductos excretores que desembocan en la uretra. Su secreción es el principal componente del tapón mucoso vaginal poscoital (Bitzinger, 2008).

2.4.5.4 Glándulas Bulbouretrales

Las glándulas bulbouretrales se presentan en pareja, poseen una forma oval y lobulada, son de color amarillo- marrón, es la más caudal de las glándulas sexuales accesorias, aproximadamente a la altura del borde caudal de la sínfisis del pubis y ventrolateral al recto. Cada una de las dos glándulas tiene un solo conducto, que se abre en la uretra en la transición de la pelvis al cuerpo esponjoso (Bitzinger, 2008).

2.5 Función de las espículas peneanas

El cobayo posee en el pene en posición ventral a la uretra, dos estructuras invaginadas denominadas espículas peneanas, mismas que cuando el pene se encuentra erecto se proyectan como dos espinas delgadas de aproximadamente 4-5 mm de longitud desde el extremo del glande (Girling, 2013).

En el trabajo de Stoddart (1979) se sugiere que las espículas penenas en los roedores actúan como órganos sensitivos accesorios, provocando sensibilidad genital en el macho o pueden proporcionar un estímulo adicional para el tracto femenino provocando la ovulación.



Asimismo Spotorno (1979), menciona que en especies de roedores de ovulación espontánea, no se ha considerado adecuadamente los mecanismos fisiológicos para la descarga preovulatoria de LH, por lo cual se sugiere que podría existir un estímulo mecánico actuando a nivel de vagina y cérvix uterino.

2.6 Fisiología reproductiva del cobayo hembra

2.6.1 Generalidades

El ciclo estral en la cobayas tiene una duración media de 16 días. En la hembra el celo se caracteriza por cambios de comportamiento tales como la postura, lordosis de la hembra en la presencia del macho, la ruptura de la membrana y la secreción de moco vaginal. Durante el celo que generalmente se presenta en la noche tiene una duración de seis a once horas, momento en que la hembra es receptiva al macho (Noonan, 1994).

La ovulación se produce espontáneamente aproximadamente 10 horas después de la aparición del celo. Normalmente dos a cuatro óvulos son liberados. Si se produce el apareamiento, el tránsito de espermatozoides hacia el oviducto es de 15 minutos. Se forma un enchufe copulador en la vagina pocos minutos después del apareamiento y se conserva durante uno o dos días. El período de gestación es relativamente largo, siendo 68 días en promedio. La preñez puede ser detectada por la palpación de los fetos a las cuatro o cinco semanas. El peso de la hembra puede doblar durante la gestación. Justo antes del parto, la sínfisis púbica se separa unos 15 mm. La hembra luego del parto suele consumir la placenta y las membranas. Puede ocurrir canibalismo, especialmente donde hay mortinatos. Existe la presencia de un celo



posparto fértil, mismo que en condiciones de crianza intensiva es utilizado para lograr una mayor cantidad de preñeces en las hembras. El recién nacido es precoz, siendo plenamente desarrollado con una longitud corporal de hasta 310 mm, capa de pelo, los dientes formados y los ojos abiertos. El peso al nacer en vivo oscila 75-100 g. El recién nacido puede comer alimentos sólidos casi inmediatamente y se puede destetar a los pocos días. Sin embargo, se crían con más éxito si el destete se retrasa hasta 14-21 días o 180 g de peso corporal. La producción de leche alcanza su pico hacia unos siete días después del parto y disminuye en alrededor de cuatro semanas. La hembra a menudo acepta a crías que no sean de las suyas sobre todo en el caso de alojamiento en grupo. Las hembras alcanzan la pubertad y pueden entrar en celo a menos de cuatro semanas de edad y así deben ser destetadas a 180 g o tres semanas. Los machos alcanzan la pubertad a los 68 a 70 días. El apareamiento debe retrasarse hasta que la hembra pese 800g (dos a tres meses) y el macho pese 900g aproximadamente de tres a cuatro meses (Noonan, 1994).

2.6.2 Ciclo estral de la cobaya

2.6.2.1 Proestro

Esta fase se extiende por aproximadamente 1 a 1,5 días, se caracteriza porque existe una sorprendente proliferación epitelial en las capas interiores de la vagina con una proliferación de células estratificadas y cornificadas, existe durante este período una actividad de “montaje” entre hembras, lo cual estaría correlacionado con la estimulación estrogénica y el desarrollo folicular (Deanesly, 1966).



2.6.2.2 Estro o calor

El estro o calor en la cobaya se caracteriza por cambios en el comportamiento del animal, tal como adoptar a posición de lordosis ante la presencia del macho, además existe una importante descarga de mucosidad vaginal durante este periodo. En general este período ocurre durante la noche y tiene una duración de entre 6 y 10 horas en las cuales la hembra es totalmente receptiva al macho. Una característica muy importante que ocurre en el cobayo es que una vez que se ha producido la copulación el celo es interrumpido (Roy, Goldstein, & Williams, 1993).

2.6.2.3 Metaestro

Este es el período siguiente al período de celo y podría ser considerado como el período de recuperación de los cambios del celo. La duración de este período depende casi por completo de la condición del animal. En un animal normal con una dieta adecuada dura 2-3 días hasta que se restablece la condición normal. Si el macho intenta montar a la hembra existe un vigoroso rechazo de la misma.

2.6.2.4 Diestro

El período de diestro es el tiempo transcurrido entre dos celos consecutivos o períodos de calor. Este período es el más largo del ciclo y dura aproximadamente 14-18 días.

2.6.2.5 Fenómenos Físicos del período de celo

Una de las principales indicaciones de la aproximación del período del celo o el calor es el cambio físico notado en el animal. Los músculos y las articulaciones se vuelven sensibles y relajados, gracias a este cambio se puede determinar si el animal es normal y saludable. Durante este período, el nerviosismo y una cierta depresión



mental son notables. Un signo visible adicional del calor es la caída del pelo en cantidades inusuales; como resultado de esto, la apariencia externa del animal se vuelve algo brillante. Esto puede ser determinado mediante la comparación de un animal que se encuentra en celo frente a otra hembra preñada o un macho. En casos excepcionales, una secreción menstrual leve puede desarrollarse durante el embarazo; en este caso la caída del pelo es ligera de acuerdo con el grado de actividad menstrual. (Ishii, 1920).

2.6.3 Crecimiento folicular en las cobayas

De acuerdo con el estudio realizado por Bland (1980), la cobaya posee dos ondas de crecimiento folicular, en el mencionado estudio se encontró que existen dos formas de atresia folicular durante el ciclo; entre los días 2 y 5 la atresia de folículos pequeños consistía únicamente en la infiltración de tejido conectivo, mientras que durante el resto de la atresia se presentó la aparición de fluido folicular de células con núcleos picnóticos. Una ola de atresia coincidió con la ovulación, sin dejar folículos antrales presentes en el ovario inmediatamente después del celo. La formación del antro se produjo en un folículo, con un diámetro de alrededor de 220 μm y apareció por primera vez en el día 3. Existen dos oleadas de crecimiento folicular; una que culminó en los días 10 a 11 y la otra que termina en la ovulación. El examen de los animales en este estudio mostró que el diámetro medio de folículos presentes en los ovarios de 8 cobayas en el día 10 fue $853 \pm 13\mu$, mientras que en el día 12 (7 animales) fue $724 \pm 5 \mu\text{m}$ ($P < 0.01$). La regresión lútea comenzó cuando los productos de la primera oleada de crecimiento folicular comenzaron a retroceder. La frecuencia media de la ovulación fue similar en ambos ovarios (ovario izquierdo 2-25 ovulaciones; ovario derecho 2-15 ovulaciones).



2.6.4 Fertilización

El tiempo exacto en el que ocurre la fertilización es desconocido en el cobayo; no obstante, se considera que transcurridas 6-15 horas post coito, el folículo se encuentra localizado en la porción medial del oviducto. Existe un alto porcentaje de fertilización en el cobayo, lo que explica que a pesar de que existen un número reducido de folículos ovulados, se presente una alta tasa de parición (Wagner, 2014).

2.6.5 Implantación

Antes de que ocurra la implantación, la muerte embrionaria es muy baja en el cobayo, la implantación ocurre aproximadamente de 6 a 7.5 días luego del coito (Wagner, 2014).

2.6.6 Gestación

El cobayo es una especie sumamente prolífica, pudiendo alcanzar hasta 8 crías por parto. El período de gestación de la cobaya es de aproximadamente 68 días lo cual dependerá de tamaño de la camada. El tamaño de la camada varía con las líneas genéticas y las prácticas de manejo, igualmente depende del número de folículos, porcentajes de implantación, porcentajes de supervivencia y reabsorción fetal. Todo esto es influenciado por factores genéticos de la madre del feto y las condiciones de la madre por efecto de factores ambientales. Las condiciones climáticas de cada año afectan marcadamente la fertilidad, viabilidad y crecimiento. El tamaño de la madre tiene gran influencia en el tamaño de la camada (Pajares, 2009).



2.6.7 Parto

El parto en los cobayos ocurre comúnmente durante la noche y dura entre 10 y 30 minutos; las crías nacen con los ojos abiertos, provistos de incisivos y con todo su pelaje. La madre limpia y lame a sus crías favoreciendo la circulación y proporcionándoles su calor. Las crías inician su lactancia al poco tiempo de nacidas y a las pocas horas de nacidas comienzan a roer y tratar de comer alimento grosero. La edad al primer parto está influenciada directamente por la edad del empadre, las hembras empadradas entre la octava y décima semana de edad quedan preñadas más fácilmente en el primer celo después de ser expuestas al reproductor (Pajares, 2009).

2.6.8 Parámetros reproductivos

El número de crías vivas por parto en los cobayos es de aproximadamente 1 a 4 crías, siendo de mayor frecuencia los partos de 2 a 4 crías. Excepcionalmente se producen partos de 5 a 6 crías y cuando esto ocurre 1 o 2 de ellos mueren. El peso de los gazapos al nacimiento es de aproximadamente 80-120 g. El peso de las crías está en relación directa con el tamaño o número de camada. Camadas de 1 a 2 individuos pueden alcanzar hasta 120 g de peso cada uno, mientras que en camadas de 4 a 6 individuos, sus pesos pueden llegar solamente entre 50 a 80 g (Sánchez, *et al.*, 2007).



Tabla 2. Parámetros productivos y reproductivos del cuy

PARÁMETRO	INDICADOR
Fertilidad	98%
Nº Crías promedio	2-3 / PARTO
Nº partos por año	4-5
Gestación	68 días
Ciclo estral	18 días
Vida reproductiva	3 -5 partos
Mortalidad lactancia	10-15%
Mortalidad engorde	5-18%
Mortalidad en reproductores	5 %
Relación macho : hembra	1: 10
Equilibrio sexual	50%
Destete	21-28 días
Reemplazo	50%
Rendimiento de canal	57-70%

Fuente: Vivas & Carballo, (2009).

2.7 Fisiología reproductiva del cobayo macho

Una eyaculación del cobayo contiene aproximadamente 480×10^6 espermatozoides por ml. Muchos de los cuales quedan atrapados en el tapón vaginal y posteriormente son vertidos hacia el interior de la vagina de la hembra, no obstante algunos son transportados rápidamente a través del útero hacia el oviducto. Durante el estro, cuando los espermatozoides son depositados, el tiempo que toman en llegar hacia el extremo distal del oviducto, incluyendo la unión útero tubárica, es de aproximadamente una hora; allí permanecerán hasta cerca del momento de la



ovulación y luego migraran rápidamente cuando inicia la ovulación. Cuando los espermatozoides se depositan en el útero después de la ovulación, el transporte de espermatozoides al oviducto proximal se produce más rápidamente que cuando los espermatozoides son depositados antes de la ovulación. Esto puede estar influenciado como en otras especies como conejos y hámster, en el estado hormonal del animal en ese momento, que influye sobre la musculatura del útero y la capa ciliar del mismo. El número de espermatozoides que llegan al sitio de la fertilización ("porción ampular" del oviducto) es sumamente bajo en el cobayo siendo de aproximadamente 25 a 50, pero podría variar dependiendo del momento de la monta en relación con la ovulación y también cuánto tiempo después de la monta se realiza el conteo. En cualquier caso el número de espermatozoides presentes en el lugar y momento de la fertilización es extremadamente bajo, sin embargo; estos pocos espermatozoides parece ser suficientes para efectuar la fertilización de todos los ovocitos (Yanagimachi & Mahi, 1976).

El tiempo que transcurre desde que el espermatozoide se encuentra en el oviducto hasta que inicia la fertilización de los ovocitos es de aproximadamente 10-12h. Durante el inicio de la fertilización, la reacción acrosomal de los espermatozoides inicia en la parte proximal del oviducto cuando están muy cerca de los ovocitos. Algunos espermatozoides pueden realizar esta reacción en el oviducto distal, pero es poco probable. Los factores que desencadena la reacción del acrosoma de fertilización de los espermatozoides en el sitio de la fertilización es desconocida, pero podrían ser los productos de secreción de las sustancias foliculares asociados con los ovocitos (por ejemplo, la matriz del cumulus oophorus o incluso el fluido folicular). La alta incidencia de reacción en el oviducto proximal en comparación con



el oviducto distal sugiere que el entorno en el primero es más favorable para la iniciación de la reacción. Esto podría deberse en parte a concentraciones más óptimas de iones calcio y / o fuentes de energía de espermatozoides (como glucosa, lactato y piruvato), factores que se sabe que influyen en gran medida la iniciación de la reacción del acrosoma de los espermatozoides del cobayo (Yanagimachi & Mahi, 1976).

2.7.1 Espermatogénesis en el cobayo

La espermatogénesis es un proceso de diferenciación compleja que se puede dividir en tres fases: la proliferación mitótica de espermatogonias, las divisiones meióticas de espermatocitos y espermiogénesis. La meiosis es el mecanismo por el cual los organismos que se reproducen sexualmente reducen a la mitad su contenido de ADN, a través de un programa que consiste en una sola duplicación del ADN seguido por dos divisiones celulares. Al lado de esta reducción en el número de cromosomas, un reordenamiento importante del material genético se produce durante la meiosis, (recombinación homóloga), que tiene vital importancia como fuente de variabilidad genética. Acontecimientos citoplásmaticos importantes tienen lugar durante la meiosis, pero el proceso es principalmente relacionado con el comportamiento de los cromosomas durante la profase y la anafase de la primera división meiótica (es decir, la sinapsis homóloga, recombinación y segregación). Los cromosomas homólogos deben reconocer, alinearse y recombinarse durante una primera profase meiótica. Las estructuras nucleares que caracterizan a la profase meiótica son los complejos sinaptonémicos (SCS), estructuras axiales, en forma de cintas tripartitas compuestas por dos elementos laterales y una zona central que se



extienden a lo largo de los cromosomas bivalentes, con ambos extremos conectados a la envoltura nuclear (Rodríguez & Wettstein, 2004).

Durante el primer estadio leptoteno (L), se organiza un eje de naturaleza proteica a lo largo de cada cromosoma, de forma previa al apareamiento de los cromosomas homólogos. A estos ejes se les conoce como ejes cromosómicos simples o elementos axiales (EAs). La cromatina se encuentra dispuesta como finos filamentos, que en muchas especies es imposible identificar como cromosomas individuales. Es también durante L que los extremos teloméricos insertos a nivel de la periferia nuclear se mueven en el plano de la envoltura nuclear, comenzando a agruparse en la transición al estadio siguiente, el cigoteno (Z), los telómeros llegan a agruparse en un sector limitado de la envoltura nuclear, lo cual conduce a una peculiar conformación cromosómica que recuerda a un arreglo floral y que se ha denominado bouquet. En los estadios de L y Z pueden observarse, como primer signo citológico del proceso de recombinación, complejos proteicos conocidos como nódulos de recombinación tempranos que marcarían todos los sitios donde ocurren reacciones relacionadas con el intercambio de hembras. En la siguiente etapa, paquiteno (P), los cromosomas se encuentran totalmente sinapsados de un extremo a otro, lucen más cortos y gruesos y la configuración en Bouquet comienza a desarmarse. Es durante este estadio que tiene lugar la recombinación homóloga o crossing over, que aparece también mediada por los CSs y que conduce al intercambio recíproco de material entre las cromátidas homólogas apareadas (Rodríguez-Casuriaga, 2011).

La recombinación homóloga representa una importante fuente de variabilidad genética y por lo tanto de biodiversidad por las siguientes razones: a) genera el



intercambio de fragmentos génicos de origen paterno y materno; b) incorpora durante el proceso posibles errores o modificaciones; c) es cuantitativamente importante, dado que necesariamente existirá al menos un punto de recombinación (usualmente varios) por cromosoma (la ocurrencia de al menos un evento de crossing over por par cromosómico resulta crucial para una correcta segregación de homólogos durante la metafase I y la no ocurrencia, de aneuploidías); d) es trascendente, dado que al producirse en los gametos de ser éstos viables transmitirán la modificación génica a la descendencia y a través de ella a la población y a la especie. La recombinación continúa hasta el siguiente estadio, el diploteno (D), durante el cual los CSs se desensamblan y los homólogos comienzan a separarse, al desaparecer las cohesinas que se encontraban uniendo a los homólogos. En esta etapa los cromosomas permanecen en general, unidos en varios puntos denominados quiasmas, que representarían la evidencia morfológica de los intercambios que tuvieron lugar (sitio de ruptura y reunión recíproca entre cromátidas no hermanas). En la última etapa, la diacinesis, los centrómeros se separan y los cromosomas se mantienen unidos únicamente por los extremos de las cromátidas. Los procesos de alineamiento, sinapsis y recombinación que tienen lugar en los meiocitos primarios o meiocitos I (diploides y con contenido de ADN=4C) durante la profase I, son esenciales ya que aseguran la correcta segregación cromosómica en la primera división meiótica. Luego de culminada la profase meiótica I tiene lugar la metafase I, marcada por la migración de los cromosomas hacia la placa ecuatorial. En la anafase I los cromosomas homólogos se segregan, dando lugar, en la telofase I, a dos células hijas denominadas meiocitos secundarios o meiocitos II (haploides, pero con contenido de ADN=2C). Finalmente, la segunda división meiótica lleva a la separación de las cromátidas hermanas obteniéndose



como resultado, cuatro células haploides con contenido de ADN=C, llamadas espermatidas redondas en el proceso de espermatogénesis (Rodríguez-Casuriaga, 2011).

La última etapa dentro de este proceso se denomina espermiogénesis. Las espermatidas resultantes de la segunda división meiótica son células redondas que carecen de flagelo. Mediante la espermiogénesis, estas células adquieren las estructuras que serán funcionales en lo referente a la motilidad y la interacción con el gameto femenino. Los cambios más relevantes son: a) se genera la vesícula acrosómica a partir del aparato de Golgi; b) el acrosoma forma una caperuza sobre la superficie nuclear; c) el núcleo rota posicionando al acrosoma hacia la membrana basal y al centríolo hacia la luz del túbulo; d) se comienza a formar el flagelo a partir del centríolo; e) el núcleo se aplana; f) el material nuclear se condensa; g) se elimina gran parte del citoplasma y h) las mitocondrias forman un anillo en la base del flagelo. Finalmente, los espermatozoides maduros son liberados a la luz de los túbulos seminíferos (Rodríguez & Casuriaga, 2011).

De acuerdo con el estudio de Núñez, *et al.*, (2013), en el cobayo se pueden distinguir las siguientes fases después del nacimiento: impúber, pre-puberal, pubertad y la madurez sexual propiamente dicha, de acuerdo a la duración y establecimiento de la espermatogénesis. Es así que obtuvieron que antes de las cinco semanas de edad el cobayo se encuentra en etapa impúber, a las cinco semanas de edad se considera que el cobayo está en una etapa prepuberal, no obstante hacia las seis semanas de edad la espermatogénesis está plenamente establecida lo que indica la etapa puberal del desarrollo sexual. Pero no es sino hasta la semana 11 que el cobayo ha llegado al máximo de producción de esperma



diaria y la madurez sexual, entonces la espermatogénesis se convierte en un proceso continuo.

2.7.2 Áreas cerebrales que estimulan el comportamiento sexual del cobayo macho

La entrada quimiosensorial y el sistema vomeronasal es probablemente el estímulo más importante para el comportamiento sexual de los roedores machos. La información de los sistemas olfativos, se procesa en la amígdala medial (MeA), junto con la información somatosensorial de los genitales, misma que es transmitida a través de la porción parvocelular del núcleo subparafascicular (SPFp), que también es parte de un circuito de eyaculación en varias especies. Las aportaciones de los MeA, tanto directamente, así como a través del núcleo de la estría terminal (BNST) y el área preóptica medial (MPOA) .El MPOA es posiblemente el sitio más crítico para orquestar el comportamiento sexual masculino. Recibe la información sensorial indirectamente de todos los sistemas sensoriales y envía conexiones recíprocas de nuevo a esas fuentes, permitiendo así que el MPOA influya en la entrada que recibe. También envía la salida a los núcleos del hipotálamo, mesencéfalo y del tronco cerebral que regulan los patrones autonómicos y motrices (Hull & Dominguez, 2007).

Un factor importante para promover la liberación MPOA es el óxido nítrico (NO), tanto en condiciones basales como estimulados por las hembras. NO inmunorreactividad sintasa (NOS-IR) está regulada positivamente por tanto T y E2. Otros neurotransmisores en el MPOA que puede facilitar la conducta sexual de cobayos macho son la norepinefrina, la acetilcolina, la prostaglandina E2 y hipocretina / orexina (Hcrt / orx); mientras que el GABA y 5-HT pueden tener efectos inhibidores. Los bajos niveles de los opioides pueden facilitar y dosis más altas



inhibir la cópula. La dopamina en el tracto mesocorticolímbico, ascendiendo desde el área tegumental ventral (VTA) para el núcleo accumbens (NAC) y la corteza prefrontal, es importante para el libido del macho. Se recibe la entrada del MPOA y muchas otras fuentes. El núcleo paraventricular (PVN) del hipotálamo comprende una división magno celular, que libera oxitócica y vasopresina en la circulación de la pituitaria posterior y una división parvo celular, que se proyecta a varias áreas del cerebro y la médula espinal (Hull & Dominguez, 2007).

2.7.3 Comportamiento sexual y cortejo del cobayo

El comportamiento reproductivo de los cobayos (*Cavia porcellus*) es de carácter polígamo, caracterizado por una alta disposición de los machos a cortejar a las hembras, incluso a las preñadas. El comportamiento de cortejo masculino, como se observa en las colonias incluye la exploración social, la persistencia tras las hembras y cuando se encuentran en un contacto cercano, el macho genera un movimiento oscilante de la parte posterior del cuerpo, conocido como la rumba, asociado con una característica vocalización de baja tonalidad, el ronroneo. Los machos dominantes monopolizan las hembras y en grandes grupos subdivididos en subunidades, podrán establecer la vinculación social de larga duración con las hembras de sus subunidades. El reconocimiento individual y unión juegan un papel importante en la vida social de los cobayos y pueden contribuir a la estabilidad de la estructura social y de la reducción del estrés (Cohn, Tokumaru, & Ades, 2004).

Antes del acto de la cópula el macho sigue a la hembra, olfateando su área urogenital, mordisqueando la piel, posteriormente se realiza la monta y el macho



ejecuta numerosos movimientos pélvicos pero poco profundos estimulando a la hembra para que asuma la posición para la copulación. (Bignami & Beach, 1968).

El olfateo es de vital importancia durante el proceso de cortejo sexual, debido a que los cambios cíclicos hormonales relacionados con el ovario y otras estructuras que sufre la hembra, producen una serie de olores que son atractivos hacia los machos que desencadenan la excitación de los mismos (Doty, 1976).

Cuando la hembra extiende sus piernas traseras y eleva el perineo se conoce como lordosis; en este momento el macho se levanta sobre sus patas traseras, el pene ingresa en el orificio vaginal durante la inserción el macho puede flexionar una pata trasera y levantar un pie en el suelo. La inserción continúa con una serie de empujes eyaculatorios relativamente y terminan con la deposición del tapón seminal dentro del portal vaginal. (Bignami & Beach, 1968)

El aumento de la profundidad y la disminución del tiempo de los movimientos de empuje del macho proporcionan un indicador fácil de reconocer que la eyaculación está ocurriendo. Un apareamiento completo, inicia con el empuje rápido que evoca respuesta de postura de la hembra y termina con el empuje eyaculatorio, generalmente dura de 8 a 10 segundos (Bignami & Beach, 1968).

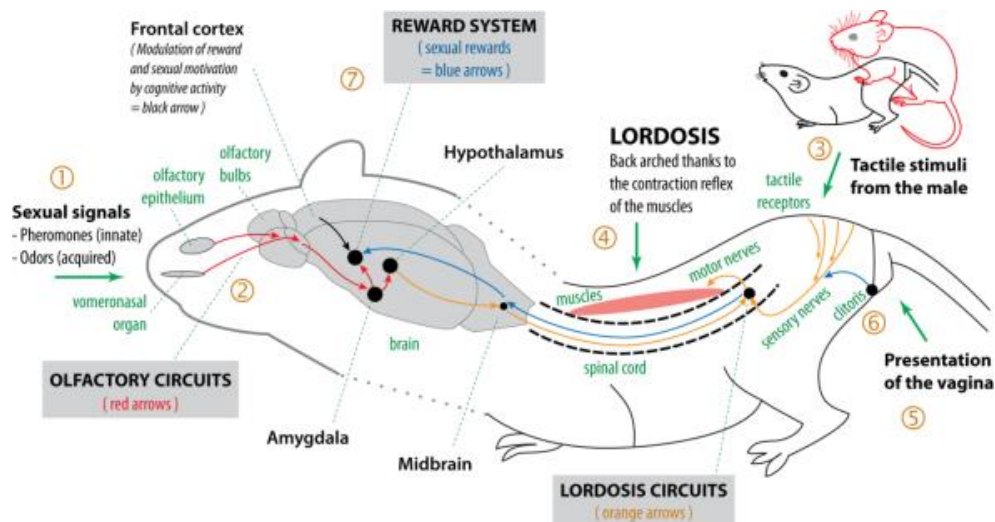


Fig. 9. Mecanismo fisiológico de la lordosis.

Fuente:Castel,(2014).

A través del olfato pueden captar el olor de feromonas, que permitan el intercambio de señales sexuales entre posibles parejas. A través de los circuitos olfativos se pueden identificar a los miembros del sexo opuesto y desencadenar la excitación que conlleva a su vez en el caso de los machos a la erección y monta. Cuando se produce la monta, el macho estimula la zona pélvica de la hembra provocando el reflejo o posición de lordosis. La lordosis genera que el arco ventral de la columna vertebral eleve las caderas y permita la presentación de la vagina al macho. El contacto entre el pene y el área genital de la hembra producen que se lleven a cabo los movimientos reflejos del macho, que permitirán la intromisión del pene dentro de la vagina lo que a su vez desencadenará la eyaculación. Se produce una estimulación del clítoris que es llevada al cerebro. Se genera un sistema de recompensa el mismo que induce el aprendizaje que optimiza la cópula, en especial por el desarrollo de la motivación sexual, señales sexuales, olfativas, así como las señales auditivas y visuales (Castel, 2007).



2.8 Método para colecta de semen de cobayo

2.8.1 Electroeyacuación

El método de colecta de semen por medio del uso de un electro eyaculador en un cobayo brinda buenos resultados; no obstante, este método genera un shock severo en el animal, mismo que necesita de aproximadamente cinco minutos para poder recuperarse y alrededor de media hora para estar totalmente normal. Para realizar este procedimiento se utilizan 33 v, a razón de 60 ciclos, por medio de un electrodo que se coloca bajo la piel del cuello y el segundo en la boca del animal. El protocolo consiste en aplicar 6 sesiones de diez segundos con un intervalo de un minuto en cada una de ellas, como resultado obtendremos alrededor de 1.5 a 3 mg de eyaculado (Wagner, 2014).

2.8.2 Método de difusión para obtener muestras espermáticas en roedores

Para efectuar el método de difusión procedemos a extirpar los epidídimos de cada testículo, posteriormente deben ser colocados en una caja Petri que debe contener medio nutritivo o solución fisiológica. Con la ayuda de un escalpelo procedemos a aislar la parte caudal de la cola del epidídimo, teniendo mucho cuidado de no incidir vasos sanguíneos que ocasionarían una contaminación de la muestra. Posteriormente el tejido debe ser colocado en tubo que contenga medio nutritivo y permanecer en el mismo por un período de 15 minutos para permitir la difusión de los espermatozoides en el medio. Finalmente el tejido es retirado y se puede analizar el líquido que contiene espermatozoides (Suckow, Weisbroth, & Franklin, 2005).



De acuerdo con Suckow, Weisbroth, & Franklin, (2005) se han obtenido mejores resultados en muestras de semen obtenidas a partir de la cola del epidídimo, reportándose mayor motilidad tanto masal como individual especialmente en el porcentaje de espermatozoides que avanzan hacia adelante.

2.9 Características seminales

2.9.1 Tapón vaginal

De acuerdo con Wagner, (2014), la porción del eyaculado que es secretado por las vesículas seminales, se coagula casi inmediatamente durante la eyaculación formando un tapón mucoso que llena completamente el lumen de la vagina y el cérvix. Este tapón se forma gracias a la emisión de una enzima secretada por la próstata. Se desconoce la función específica de este tapón, no obstante se cree que funciona como un bloque para evitar nuevas copulaciones o la salida del semen eyaculado. El tapón vaginal cae espontáneamente luego de transcurridas varias horas del apareamiento.

2.9.2 Capacitación espermática

La capacitación espermática en el cobayo no ha sido estudiada in vivo, no obstante se han realizado investigaciones para la fertilización in vitro de ovocitos de cobayos, que han sugerido que el tiempo de capacitación óptimo para los cobayos es de aproximadamente 8-10 horas. (Wagner, 2014).



2.9.3 Morfología y motilidad espermática

Los espermatozoides del cobayo, muestran un patrón de movimiento muy diferente a los observados en toros y en el ser humano, poseen un movimiento curvilíneo y caracterizado por un movimiento de avance irregular. Las muestras seminales de cobayo muestran un alto porcentaje de células espermáticas normales (Wagner, 2014).

2.9.4 Valores seminales promedio

Tabla 3. Valores seminales promedio en cobayos

Parámetro	Valor
Volumen de eyaculado(ml)	0.5
Concentración espermática (x 10 ⁶ ml)	410.78
Motilidad Masal %	66
N° de espermatozoides móviles por eyaculado (x 10 ⁶ ml)	9.26
Morfología Normal %	95

Fuente: Wagner (2014).

2.10 Evaluación microscópica del Semen de Cobayo

2.10.1 Motilidad Masal

El movimiento en masa o masal está sujeto a tres factores: concentración, porcentaje de células con movimiento progresivo y velocidad de movimiento de los espermatozoides. Cuando uno de estos factores se encuentra disminuido, las ondas



rápidas en remolinos esperadas son severamente deprimidas o eliminadas (Tribulo, Barth, & Brogliatti, 2011).

La escala que se toma es de 1 a 5, evaluando como 1 al semen que no presenta ondas y 5 cuando las ondas se mueven rápidamente formado remolinos. Dentro de esos parámetros se consideran los puntos intermedios. Se considera como valor mínimo de aceptación 3 (Gomez & Migliorisi, 2001).

2.10.2 Motilidad individual

La observación y evaluación de las células con movimiento progresivo nos brinda valiosa información de la integridad de la membrana del espermatozoide, así como de su integridad morfológica. Se debe observar un campo y valorar subjetivamente los espermatozoides que se mueven en forma rectilínea progresiva, siendo éstos los que atraviesan el campo de observación. Los espermatozoides que giran en círculo o avanzan en forma oscilatoria, se consideran que tienen movimientos anormales. El porcentaje que se indica es el de los espermatozoides con movimiento rectilíneo progresivo del total de espermatozoides aceptados, siendo el valor mínimo aceptable del 50 %. (Gomez & Migliorisi, 2001).

- MB = 80-100% de células móviles.
- B = 60-79%
- R = 40-59%
- M = menos de 40%

2.10.3 Morfología

Para la evaluación de la morfología se procede a tomar una muestra de 10 micro litros de semen y se la coloca sobre la punta de un porta objetos limpio, que debe

estar a una temperatura de 36-37°C, sobre la muestra colocamos a su vez 30 micro litros de eosina que de igual manera debe encontrarse a la misma temperatura que el semen y procedemos a mezclar las dos sustancias por 20 segundos. Con la ayuda de otro porta objetos procedemos a realizar un frotis de la muestra (Gomez & Migliorisi, 2001).

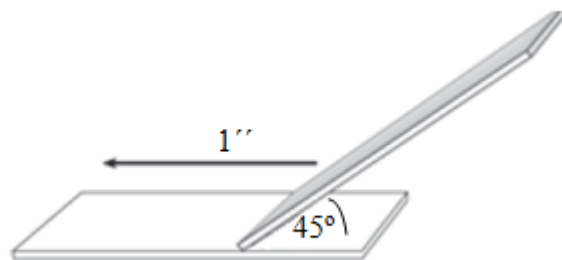


Fig. 10. Ilustración para realizar una extensión o frotis de semen, se apoya el porta objetos sobre la gota para que por capilaridad se distribuya en todo el borde del porta objetos se levanta y se realiza la extensión con firmeza.

Fuente: Gomez & Migliorisi, (2001).

Una vez realizado este procedimiento podemos realizar la evaluación, misma que se fundamenta en que el colorante penetra la membrana de los espermatozoides muertos, dejando sin tinción a los vivos. Procedemos a observar el frotis a 400x y contar todos los espermatozoides de cada campo discriminando los teñidos como muertos y los que no tienen tinción como vivos. Se debe considerar el conteo de por lo menos 100 células y de allí podemos obtener el porcentaje. Se considera como valor mínimo aceptable al 70% de células vivas (Gomez & Migliorisi, 2001).

2.10.4 Concentración

Para el análisis de la concentración espermática, se puede realizar por medio de un fotómetro en cuyo caso, se coloca la muestra de semen en la cámara del mismo y se obtendrá la concentración espermática. Otro método utilizado es por medio del



conteo en una cámara hemocitométrica de Neubauer, en este se toma 5 μ l de la muestra que contiene espermatozoides y se diluye con agua destilada en una relación de 1:20, esta mezcla debe ser homogenizada por cinco segundos, y se procede a colocar una muestra en cada hemicámara. El recuento se lo realiza con un microscopio de 400x. Se realiza el conteo de todos los espermatozoides observables que se encuentren dentro del cuadro central de la cámara y el valor obtenido se multiplica por 10000 y por el factor de dilución 20. De esta forma se obtiene la concentración espermática por ml (Palma, 2001).

2.11 Empadre

Las hembras pueden iniciar su apareamiento cuando alcanzan un peso de 550g aproximadamente, pero al menos deben tener dos meses de edad. La ganancia de peso estará directamente relacionada con el genotipo de las hembras. Por su parte el macho puede iniciar con la reproducción a partir de los 4 meses de edad, cuando ha alcanzado un peso de 1000g y ha podido desarrollar sus órganos reproductivos en su totalidad. Se recomienda a los machos reproductores alojarlos en jaulas individuales luego de haber sido seleccionados para evitar peleas (Chauca, 1997).

2.11.1 Sistemas de empadre

2.11.1.1 *Empadre continuo*

En este sistema de empadre se aprovecha el celo postparto, ya que el macho permanece durante toda la vida productiva del cuy dentro de la jaula de reproducción. El celo post partum es de corta duración, 3.5 horas, siempre asociado con ovulación. Al aprovechar la fecundación de esta ovulación, el intervalo entre partos es igual al tiempo de una gestación. De no aprovechar este



celo el intervalo entre partos tiene la duración de la gestación más el tiempo que transcurre para lograr la ovulación fertilizada (MAGAP, 2014).

2.11.1.2 Empadre post destete

En este sistema las hembras se les permite parir en sus jaulas sin la presencia del macho, para este sistema es necesario contar con jaulas de maternidad para poder agrupar a las hembras con gestación avanzada.

2.11.1.3 Empadre Controlado

Se maneja los empadres por trimestres, se permite permanecer al reproductor por 34 días, con este sistema se estima tener una media de 4 pariciones por año. El empadre controlado se realiza para disminuir el suministro de concentrado a la mitad ya que se suministra sólo durante el empadre y 15 días antes del mismo (Chauca, 1997).

2.12 Diagnóstico de preñez

Para poder realizar un control de gestación de las cobayas y determinar si estas se encuentran gestantes se debe realizar el siguiente procedimiento:

Para poder realizar la palpación de los cuernos uterinos, debemos tomar con sumo cuidado a la madre por la parte posterior del cuello con el pulgar, el índice y dedo medio de la mano izquierda, mientras que los otros dos dedos deberán sostener el tórax del animal. Las extremidades delanteras del animal se sujetarán de esta manera con los dedos medio y anular de la mano izquierda. Posteriormente colocaremos de espaldas al animal sobre una superficie firme, la mano derecha tomará el abdomen de la hembra presionando la espina dorsal con el dedo pulgar y

el resto de dedos de forma ventral hacia el abdomen. Se procede a extender los dedos y a realizar un movimiento continuo, examinando así toda la cavidad abdominal, de esta manera se conseguirá palpar los cuernos uterinos con la punta de los dedos, la presencia de abultamientos en los mismos es indicativo eficaz de preñez, no obstante es muy importante tener cuidado en la parte superior del abdomen pues se pueden palpar los riñones y darnos falsos positivos (Kaufmann & Davidoff, 2012).



Fig. 11. Forma de realizar el diagnostico de gestación en cobayas por palpación.

Fuente: Kaufmann & Davidoff, (2012).

Existen 6 etapas que se pueden distinguir de acuerdo al tiempo en el que se realiza la palpación, así en la etapa 1 hacia los quince días de gestación únicamente serán palpables, pequeños abultamientos en el útero de unos 6 mm de diámetro. En la etapa 2 entre los 25 y 30 días de gestación serán palpables abultamientos redondos el tamaño de una avellana (7-15 mm). Para la tercera etapa las estructuras palpables serán firmes elásticas y duras de aproximadamente unos 30 mm de diámetro. Durante las tres primeras etapas no pueden ser diferenciadas partes



anatómicas de los fetos. Las siguientes tres etapas que se pueden describir serán palpables estructuras fetales completas, es así que en la etapa 4 se podrán palpar cuerpos cilíndricos dentro del útero, hacia la etapa 5, el feto palpable será de aproximadamente 5-7 cm y se podrá distinguir la cabeza, tórax y la pelvis. Finalmente en la etapa 6 los fetos tendrán un tamaño de entre 7-10 cm y será fácilmente distinguible su cabeza. El método de palpación nos permite con suficiente certeza el diagnosticar una preñez en cobayas, no obstante posibles errores se pueden presentar cuando son palpados la vejiga o los riñones y confundidos con fetos (Kaufmann & Davidoff, 2012).

2.13 Experimentación en animales de laboratorio (bioética)

La experimentación biomédica en animales, ha permitido a lo largo de los años desarrollar de forma detallada el conocimiento de muchos sistemas fisiológicos, el funcionamiento de sistemas y aparatos, desarrollo de técnicas quirúrgicas y abordajes, así como la comprensión y estudio de patologías y sus posibles tratamientos. No obstante, es responsabilidad de quienes llevan a cabo este tipo de investigaciones en animales mantener un alto compromiso en garantizar su vida, estado físico y emocional. Disciplinas como la etología y la neurobiología, han demostrado que algunas especies de mamíferos, en particular los primates no humanos, poseen capacidades cognitivas y un grado de consciencia bastante desarrollado. Esto aumenta nuestra responsabilidad hacia los animales en quienes se lleva a cabo cualquier experimento, sin tomar en cuenta sus intereses o su renuencia a participar. Ya que no les podemos solicitar su consentimiento, nos



hemos adjudicado como especie, el privilegio de decidir arbitrariamente sobre sus cuerpos y sus vidas (Vanda-Cantón, 2003).

Es necesario refinar y perfeccionar los métodos y técnicas de investigación a fin que podamos reducir el número de animales necesarios para esta, antes de llevar a cabo cualquier procedimiento experimental llevar a cabo una extensa búsqueda bibliográfica para entender y evitar repeticiones y errores en nuestro experimento. El malestar y el dolor de los individuos experimentales deben reducirse al mínimo. Esto debe ser un objetivo fundamental de nuestra experimentación. Existen códigos internacionales sobre la experimentación en animales los cuales nos sugieren las siguientes normas:

- El número de animales debe ser el mínimo para poder tener resultados viables y aplicables.
- Los animales deben ser adquiridos de forma legal o de bioterios acreditados.
- Deben ser alojados en instalaciones adecuadas y propias para el desarrollo normal de su especie.
- Brindar las condiciones óptimas de vida que garanticen su salud y bienestar.
- Los investigadores o personal que manipule los animales deben ser conscientes que son seres vivos que sienten y manifiestan dolor.
- Todo procedimiento que cause angustia o dolor a un animal deberá realizarse bajo anestesia y analgesia.
- Al finalizar los experimentos los animales deben recibir una muerte digna bajo la ausencia total de dolor (Vanda-Cantón, 2003).
-



2.13.1 Cirugía en animales de laboratorio

Antes de iniciar cualquier procedimiento quirúrgico en animales de laboratorio es necesario, tener un conocimiento avanzado de su anatomía, fisiología, farmacología, etc. Para garantizar que el procedimiento sea llevado correctamente y evitar el sufrimiento y dolor de los animales intervenidos (Olfert, Cross, & McWilliam, 1998).

2.13.1.1 Instalaciones para realizar la cirugía

El área en donde se llevará a cabo el procedimiento experimental debe contar con un área de preparación de los animales, un área de limpieza del cirujano, quirófano y un área de recuperación adecuada (Olfert, *et al*, 1998).

2.13.1.2 Planificación y preparación del animal

El procedimiento que se va a realizar debe ser escrito en forma de protocolo, en que se detallen todas las actividades que se van a realizar así como las posibles complicaciones que pueden surgir. Se deben utilizar animales saludables y que no presenten ninguna patología. Se deben acatar todos los protocolos de preparación del área operatoria, asepsia, antisepsia, preanestesia, anestesia (Olfert, *et al*, 1998).

2.13.2 Analgesia y anestesia en cobayos

2.13.2.1 Anestesia

Para poder realizar la experimentación en animales de laboratorio, como el caso del cobayo, es necesario tener conocimientos de diferentes métodos tanto de anestesia como de analgesia, que permitan, llevar a cabo la experimentación de una forma adecuada, permitiendo la manipulación de los individuos de una forma correcta y al mismo tiempo reducir al máximo el sufrimiento de los animales. Para poder realizar la experimentación debemos tener en cuenta las siguientes características:



Elección de la anestesia

La elección de la anestesia dependerá del procedimiento que se lleve a cabo. La anestesia puede ser general con el animal inconsciente; local o regional, donde sólo una región corporal no es capaz de percibir estímulo sensorial alguno. Los componentes de la anestesia general son: 1) Hipnosis o sueño, implica que el animal está ausente de su medio circundante. El grado de hipnosis deseado es similar al fisiológico, pero la presencia de estímulos externos muy potentes, normalmente dolorosos, pueden “despertarlo” percibiéndolos. 2) Analgésico ausencia de percepción dolorosa. 3) Relajación muscular que va desde un grado moderado, proporcionado por la mayoría de los anestésicos, hasta la parálisis proporcionada por medio de los bloqueantes neuromusculares. En animales de laboratorio la relajación muscular que producen casi todos los anestésicos es suficiente para la mayoría de los procedimientos quirúrgicos. 4) Bloqueo de la actividad refleja que impide respuestas del sistema nervioso autónomo y que incluyen alteraciones de la frecuencia y del ritmo cardíaco, de la producción de secreciones, etc (Álvarez, 2010).

Tipo de procedimiento

En general los procedimientos extensos, como amputación de miembros, craneotomía, toracotomía, etc., son sumamente dolorosos, razón por la cual será necesario una mayor profundidad de la sedación. Ello se puede realizar mediante el aumento de las dosis de anestésicos con el consecuente aumento de efectos secundarios adversos (principalmente depresión cardiovascular y respiratoria) o mediante la asociación de analgésicos potentes de tipo opiáceo (Mударra, 2011).



Tabla 4. Cuadro de anestésicos para roedores

	VIA/ RATÓN	RATA	HAMSTER	JERBO	COBAYO	CONEJO
PREMEDICACIÓN						
Atropina SC/IM (mg/kg)		0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Anestesia de Corta duración						
Propofol (5- 10min) (mg/kg)	IV 12-26	10	-	-	-	10
Tiopental (20-25) min (mg/kg)	IV 30-40	30	-	-	-	30
Anestesia de media duración						
Alfadolona + alfaxolona (mg/kg)	IP/15	10 IV	120	100	40-50	-
Fentanilo / medetomidina (mg/kg)	IP/-	0.3/0.3	-	-	-	-
Fentanilo + fluanisona (ml/kg) diazepam	IP/0.4/5	0.5/0	1/5	0.3/5	0.5/5	0.3 IM
Ketamina + diazepam (mg/kg)	IP/100/5	80/10	70/2	50/5	100/5	25/5
Ketamina /xilacina (mg/kg)	IP 100/10	80/10	200/10	70/3	40/5	35/5 IM
Tiletamina / zolacepam (mg/kg)	IP 80	20-40	80	60	50	50
Pentobarbital (mg/kg)	IP 50-70	30-40	80	60	40	45 IV
Anestesia de larga duración						
Alfa –cloralosa (mg/kg)	IP / 110	130	100	-	70	80-100 IV
Uretano g/kg	IP/-	1-2	1-2	-	0.5	1-2 IV

.Fuente: Álvarez, (2010).



Fases para una técnica anestésica

Ayuno

De forma general se recomienda que los animales permanezcan en ayuno por lo menos 2 horas antes de realizar el experimento, esto debido a que la presencia de alimento en el aparato digestivo del animal, puede desencadenar en vómitos y una posible neumo aspiración que perjudicaría el procedimiento (Mudarra, 2011).

Preparación preoperatoria del paciente

Antes de realizar la cirugía es importante identificar a todos los individuos a ser intervenidos es decir realizar una historia clínica de cada uno de ellos, en el que se describa peso, edad, sexo, estado de salud, etc. Se recomienda también realizar un examen físico del paciente. Todos los datos deberán ser registrados en la historia (Perkins, 2005).

Preanestesia

La preanestesia se desarrolla con el objetivo de sedar o tranquilizar al animal, así como eliminar la ansiedad y el miedo a la manipulación que no está acostumbrado (Álvarez, 2010).

Preparación de la piel

Una vez el animal ha sido sedado procederemos a realizar la preparación de la piel, para ello es necesario preparar un área de al menos dos veces la del tamaño de la cirugía, este procedimiento se debe llevar a cabo en un área diferente a la que se va a realizar la cirugía, se debe depilar completamente el pelo alrededor de la zona quirúrgica, seguido de un lavado quirúrgico en el que se debe alternar desinfectantes



como yodo o clorhexidina y alcohol. La limpieza se debe iniciar por la línea de incisión hacia afuera nunca hacia adentro y nunca se debe pasar dos veces por la misma zona (Perkins, 2005).

Prevención de hipotermia

La hipotermia puede causarnos una disminución de la frecuencia cardíaca y un retraso en la recuperación anestésica. Por ello para procedimientos quirúrgicos mayores deben asegurar la temperatura del animal mediante el uso de una manta eléctrica (Álvarez, 2010).

Inducción de la anestesia

La vía de administración de los anestésicos inyectables en el caso del cobayo es la intraperitoneal, ya que nos permite una buena anestesia y una manipulación relativamente sencilla del animal. Para esta vía se recomienda utilizar una aguja de calibre 23-25 G. En la práctica, las dosis de anestésicos recomendadas en los textos solamente sirven como una aproximación teórica y el operador ha de determinar cuál es la dosis óptima en los animales que emplea en su experiencia (Álvarez, 2010).

Recuperación de la anestesia

Se recomienda observar la recuperación del animal en la misma sala de cirugía, posteriormente cuando sea trasladado a su alojamiento es necesario que este sea individual, para evitar situaciones estresantes que perjudiquen el procedimiento o la cicatrización de las heridas. Durante el periodo post-anestésico inmediato debemos



retirar la comida y la bebida de la jaula. Repondremos la comida y la bebida cuando el animal está completamente despierto y caminando por la jaula.

Cuidados postoperatorios

Es necesario llevar a cabo todas las actividades necesarias para limitar al máximo el sufrimiento y dolor de los pacientes que fueron intervenidos, se deben controlar las constantes fisiológicas de los pacientes, así como monitorear a los pacientes con el fin de descartar la posibilidad de infecciones o complicaciones postquirúrgicas y sobre todo un manejo adecuado del dolor (Olfert, *et al.*, 1998).

Analgesia

La analgesia se debe utilizar siempre que sea posible cuando se anticipa dolor postquirúrgico. Las ventajas de la analgesia preventiva, incluyen, tanto la reducción de estímulos nocivos que alcanzan el sistema nervioso central durante la cirugía así como la reducción de la inflamación periférica. La administración de algunos opioides tales como buprenorfina antes de la cirugía tendrá un efecto anestésico de preservación, así como la reducción de la dosis de anestesia. Este efecto puede ser fácilmente incorporado en el plan de anestesia cuando se utilizan anestésicos inhalados; por ejemplo, buprenorfina permite 30 minutos antes de la operación de una reducción de las concentraciones de mantenimiento isoflurano en alrededor de 0,25% a 0,5%. Al usar agentes anestésicos inyectables, los efectos pueden ser menos predecibles, los AINE's son generalmente bien tolerados en el pacientes bien hidratados; sin embargo aunque la analgesia preventiva es preferible con respecto a la eficacia de los agentes, la administración del fármaco puede ser difícil y estresante para roedores debido a su pequeño tamaño. Los analgésicos a menudo



se combinan con agentes anestésicos y se dan como una sola inyección (Miller & Richardson, 2011).

Tabla 5. Dosis de analgésicos para cobayos

Dosis de analgésicos para cobayos			
Opioides	Dosis (mg/kg)	Vía	Intervalo (horas)
Buprenorfina	0.05	sc	8-12
Butorfanol	1.0-2.0	sc	4
Morfina	2.0-5.0	sc-im	4
AINE			
Carprofeno	4.0	sc	12-24
Flunixin	2.5	sc	
Ketoprofeno	1.0	sc	12-24
Meloxicam	0.1-0.3	sc-po	24

Fuente: Miller & Richardson, (2011).

2.13.3 Cirugía experimental del aparato reproductor en animales de laboratorio

Este tipo de procedimientos se han desarrollado a largo de los años con el fin de comprender una serie de interrogantes suscitadas en cuanto se refiere a la reproducción humana. Especialmente en lo referente al tratamiento de problemas de infertilidad. El progreso en esta área es el resultado de un esfuerzo y cooperación que involucra numerosas disciplinas y especialidades, entre ellas la de la microcirugía. Como una nueva e innovadora técnica que permite la disección precisa de tejido, la colocación precisa de suturas, la minimización del trauma del tejido y el restablecimiento de la continuidad anatómica, lo que ha traído una mejora dramática en restaurar la función después de la esterilización electiva anterior tanto en hombres y mujeres y en el tratamiento de trastornos de la reproducción patológicos



o congénitos. Ha sido posible alterar la anatomía genital a través de la ablación quirúrgica selectiva, movilización, o trasplante vascularizado de órganos o partes de órganos enteros, mejorando así en gran medida nuestra comprensión de la fisiología reproductiva básica. Además la contribución al conocimiento de los procesos fisiológicos normales en las especies experimentales es de gran valor para el conocimiento científico de estos individuos (Gay, 1986).

2.13.4 Roedores como modelos de experimentación

Las especies que normalmente son utilizadas para estos procedimientos son ratones, hamsters, COBAYOS, y ratas; especialmente porque al ser animales de tamaño pequeño se pueden alojar gran cantidad de individuos en un espacio más reducido, así como su bajo costo es muy importante para el impulso de estas investigaciones. En general el bien desarrollado sistema reproductor tanto masculino como femenino en estas especies los hace unos excelentes modelos animales para estudios quirúrgicos que implican órganos de estos sistemas (Gay, 1986).

2.13.4.1 Consideraciones de la cirugía genital experimental

La modificación quirúrgica de la anatomía genital, es un medio ideal para poder estudiar procesos fisiológicos normales y extrapolarlos hacia los patológicos; no obstante para esto se requiere que la cirugía que se va a realizar pueda ser repetible y en un ambiente controlado, con el fin de que los resultados obtenidos tengan validez científica y puedan ser cuantificables estadísticamente (Gay, 1986).

2.13.4.2 Manipulación de tejidos

Es importante en la cirugía experimental del aparato reproductivo, reducir al máximo el daño que se pueda ocasionar a los tejidos, para lo cual es recomendable limitar el



uso de pinzas y más bien utilizar los dedos, varillas de vidrio o sondas recubiertas. El trauma innecesario de los tejidos nos conduce a una reacción inflamatoria indeseada así como una alteración de la perfusión sanguínea local. Durante un procedimiento quirúrgico completo, todo el tejido expuesto debe mantenerse humedecido. Esto puede lograrse mediante la inmersión de todo el órgano o porción de tejido en un recipiente adecuado lleno de solución hidratante durante el período de observación o por irrigación intermitente desde una jeringa o cánula de goteo dispuestos sobre el tejido, o algunos otros medios adecuados; la elección del líquido de irrigación es importante. La solución salina fisiológica ha sido tradicionalmente el fluido de elección; sin embargo, se ha demostrado que el uso prolongado de solución salina es traumático para el tejido, causando un aumento en la permeabilidad capilar, edema, y exudación de proteínas, lo que resulta en la deposición de un revestimiento de fibrina que predispone a la formación de adherencias. Una solución más apropiada es solución de lactato de Ringer. Esta solución salina equilibrada no resulta en un cambio de fluido de tejido o en la exudación de fibrina (Gay, 1986).



CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

Los materiales que se emplearon para el proyecto de investigación se clasificaron de acuerdo a su utilización en:

3.1.1 Materiales de campo

Para la realización de este proyecto de investigación, se utilizaron los siguientes materiales físicos: balanza, equipo básico de disección, campos quirúrgicos, guantes de látex, máquina rasuradora, fichas, computadora, Vicryl, hojas de bisturí y tijeras, malla de alambre galvanizado, tiras de madera, clavos, cámara digital.

3.1.2 Materiales Químicos

Agua oxigenada, alcohol antiséptico, alcohol yodado y Zoletil 50.

3.1.3 Materiales biológicos

10 cobayos machos de cinco meses de edad, peso promedio $988,3 \pm 11,40$ g. 40 hembras de cuatro meses de edad, peso promedio $815,3 \pm 11,80$ g.

3.1.4 Materiales de laboratorio

Cajas Petri, tubos Falcón, solución fisiológica, medio Holding Plus (BIONICHE), Cushion fluid, centrifuga, microscopio óptico, placas porta objetos, placas cubre objetos, tinción eosina-nigrosina, baño maría, calentador de placas, jeringuillas de 10ml, micropipetas, fotómetro SDM 1.

3.2 Métodos

El método utilizado dentro de la investigación fue experimental, en el cual se utilizaron cuyes en etapa reproductiva, para valorar comportamiento reproductivo, fertilidad y valoración espermática en los machos del estudio.

3.2.1 Ubicación geográfica

La presente investigación se llevó a cabo en la provincia del Azuay, cantón Cuenca, parroquia Baños, Panamericana Sur km 1. Ubicado en las coordenadas UTM 717.386 X 9675.751 Y.

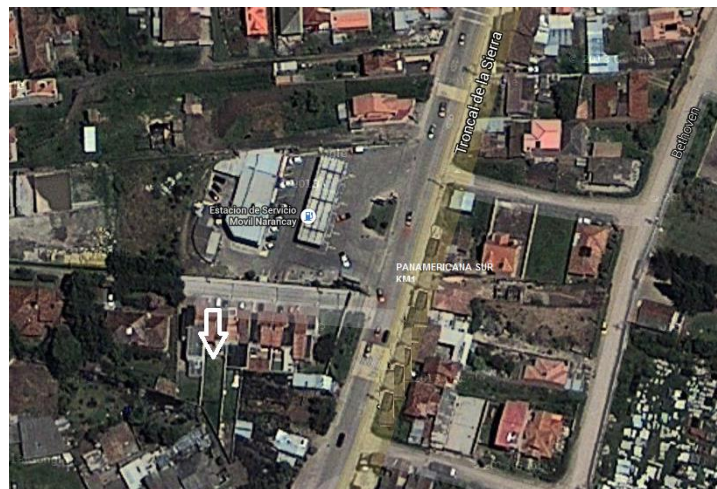


Fig. 12. Ubicación geográfica del experimento

Fuente: Google. (2016), foto de satélite de Azuay, Ecuador. Consulta: 10 de febrero 2016, <http://earth.google.com>

Las intervenciones quirúrgicas se desarrollaron en el quirófano de la clínica veterinaria “GUAF”, ubicado en el cantón Cuenca, parroquia Huayna Cápac. Ubicado en la coordenadas 723.398 X, 9679.346 Y.



Clima

La parroquia Baños posee un clima predominante que es el Ecuatorial de Alta Montaña en donde la temperatura media oscila entre los 12°C, teniendo una humedad relativa del 80%, con una duración de la insolación de 1000-2200 horas. (Cuenca, 2011).

3.2.2 Población y muestra

Se incluyeron 10 cobayos machos de cinco meses de edad, peso promedio $988,3 \pm 11,40$ gramos; 40 hembras de cuatro meses de edad, peso promedio $815,3 \pm 11,80$ gramos nulíparas. Conformación tipo A y pelaje tipo 1 de acuerdo a la clasificación determinada por Chauca, (1997). Los cobayos permanecieron en un mismo plantel desde junio a septiembre de 2015, Con las mismas condiciones de manejo y sanidad, la alimentación consistió en una mezcla de (*Pennisetum clandestinum*, *Lolium multiflorum*, *Trifolium pratense*, *Trifolium repens*), suplementadas con sales minerales.

3.2.3 Criterios de inclusión y exclusión

Los cobayos seleccionados para el presente proyecto de investigación fueron clínicamente sanos, que no posean heridas cutáneas, ni alteraciones o laceraciones dérmicas. Fueron excluidos aquellos machos que habían tenido contacto sexual con hembras anteriormente.

Se separaron dos machos del grupo, para mantenerlos como reemplazo en el caso de que se produzca la muerte de algún sujeto experimental durante el desarrollo de la metodología; uno de ellos fue extirpado las espículas y el otro se mantuvo entero.



3.2.4 Procedimiento experimental

3.2.4.1 Extirpación quirúrgica de las espículas peneanas

A cada uno de los cinco individuos seleccionados aleatoriamente para ser intervenidos, se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

Preparación del quirófano

El quirófano previamente fue desinfectado, todo el instrumental y campos quirúrgicos fueron preparados para recibir al paciente a ser intervenido.

Pesaje

Todos los sujetos a ser intervenidos fueron pesados, para realizar de una forma adecuada el cálculo de la dosis de anestesia que requerían de acuerdo a este parámetro.

Sedación y anestesia

Los cobayos a ser intervenidos, recibieron anestesia general por vía intraperitoneal de una mezcla de zolazepam + tiletamina (zoletil), a una dosis única de 50 mg/kg de peso vivo según lo recomendado por Álvarez (2010).

Preparación y embrocado de la piel

Para poder determinar que la inducción anestésica ha sido exitosa, se procedió a observar la ausencia del reflejo palpebral, así como movimientos motores de los individuos. Luego se realizó la limpieza de la piel, mediante la depilación del área adyacente al pene del cobayo, con el objeto de evitar cualquier contaminación del área a intervenir.



Una vez depilada el área próxima a la intervención se procedió a limpiar toda el área perineal, para eliminar posible residuos fecales y restos de orina. Colocamos al paciente en la mesa de operaciones y cubrimos con los campos quirúrgicos, acto seguido se realizó el embrocado y desinfección del área a intervenir.

Extirpación de las espículas peneanas

Para el corte de las espículas peneanas, se procedió a exponer el órgano genital por medio de la protrusión del pene a través de la bolsa uretral, por presión digital, se visualizan al interior del saco del glande las formaciones córneas llamadas espículas peneanas.

Una vez identificadas las estructuras a extirpar, procedemos a fijarlas con la ayuda de una pinza y a seccionarlas con una tijera de disección; al retirar las espículas, observamos que no exista hemorragia en el área y retornamos el órgano genital a su posición anatómica.

Finalmente, a todos los individuos se les aplicó Ketoprofeno a razón de 1.0 mg/kg/sc. Para evitar la hipotermia fueron alojados con protección de cobijas hasta su completa recuperación.

Recuperación postoperatoria

Todos los individuos intervenidos se recuperaron completamente de la anestesia luego de 12 horas de la intervención, después consumieron forraje verde y agua ad libitum. Posterior a la intervención se les brindó quince días de recuperación para ingresar como sujeto experimental en la investigación.



3.2.4.2 Análisis del comportamiento sexual de los sujetos experimentales

Para el presente estudio se fabricaron 8 jaulas de madera recubiertas con malla de alambre galvanizado, cada una con medidas de aproximadamente 0.75 x 0.75 x 0.45 m.

En cada jaula de forma aleatoria se colocaron 5 hembras de cuatro meses de edad, peso promedio $815,3 \pm 11,80$ g, todas pertenecían al mismo plantel de cuyes. A cada jaula se le asignó un número para ser identificada y poder realizar posteriormente el procesamiento de datos.

A cada jaula con cinco hembras se ingresó un macho de forma aleatoria, ya sea este un individuo entero (T1) o un extirpado las espículas (T2).

El análisis del comportamiento sexual de los cobayos fue medido por medio de la observación y el registro de los eventos de conducta sexual tales como:

- Número de acicalamientos genitales
- Número de olfateos
- Número de mordisqueos
- Número de montas

Para el registro de los datos se elaboró una matriz que permita un apunte eficaz y oportuno de los datos.

El análisis y registro del comportamiento sexual inició el día 15/06/2015 y fue monitoreado de forma continua durante 8 días hasta el día 22/06/2015; durante un lapso de 8 horas continuas en la mañana 07h00-15h00. Cada evento registrado fue anotado para su posterior análisis y procesamiento.



3.2.4.3 Evaluación de la fertilidad

La segunda fase del experimento se llevó a cabo para evaluar la fertilidad del macho, para lo cual se mantuvo en empadre a todos los machos en sus respectivas jaulas, en las que se inició el experimento por un lapso de treinta días.

Para el día 15/07/2015, todos los machos fueron retirados de las jaulas de reproducción, brindándole a cada jaula las mismas condiciones de alimentación y manejo.

Fueron evaluadas cuantas hembras quedaron preñadas por cada jaula durante este lapso de tiempo de empadre, por el método descrito por Kaufmann y Davidoff (2012) y para su registro se elaboró una matriz que permita procesar la información.

Una vez obtenidos los datos de fertilidad, fueron procesados para poder obtener los datos estadísticos que nos permitan evaluar la segunda etapa de la investigación. Como complemento al análisis de la fertilidad, se mantuvieron las hembras en observación, por el lapso de 68 días, para evaluar el número de crías que se obtuvieron por madre.

3.2.4.4 Evaluación seminal en las unidades experimentales

Para realizar la evaluación espermática de los cobayos enteros y los que fueron extirpados las espículas peneanas, se procedió a realizar una castración quirúrgica de los 10 machos en estudio:

Se anestesió a cada uno de los sujetos experimentales con Zoletil a una dosis de 50 mg/kg/sc, posteriormente incidimos en la cavidad abdominal para exponer los testículos y removerlos, se realiza una hemostasia simple con una pinza Kelly,



obteniendo los dos testículos de la misma forma y suturando piel con Vicryl 000, para finalmente dejar al animal en recuperación.

Los testículos de cada sujeto experimental fueron colocados en una caja Petri con solución fisiológica. Procedimos a disecar la cola del epidídimo, de una forma muy prolija para evitar que partículas de sangre contaminen el tejido, además se elimina el exceso de grasa y otros tejidos. Colocamos la región caudal de los epidídimos de cada individuo en un tubo Falcón estéril de 15 ml con 2 ml de medio HOLDING Plus. Para facilitar la dispersión del esperma se cortaron en pequeños segmentos con la ayuda de unas tijeras oftalmológicas, los tubos con el tejido se mantuvieron a 37°C en baño maría por 10 minutos para permitir que el esperma se disemine en el medio.

Posteriormente procedemos a tomar 1ml de sobrenadante del tubo Falcón y lo colocamos en otro tubo Falcón estéril, añadimos 1 ml de solución Cushion fluid[®], para centrifugación de muestras seminales en el fondo del tubo, evitando que ambas sustancias se mezclen y llevamos a la centrífuga a una velocidad de 100g por 20 minutos. Una vez transcurrido el tiempo de centrifugación procedemos a retirar con mucho cuidado la solución Cushion fluid y obtenemos el concentrado de espermatozoides para su análisis.

Para la evaluación de concentración espermática utilizamos un fotómetro (SDM 1, minitube), no obstante ya que el fotómetro utilizado no estaba calibrado para medición en roedores, realizamos una comparación, de los valores de concentración espermática de cinco muestras al azar, utilizando una cámara hemocitométrica de Neubauer, según la técnica descrita por Palma, (2001). Al determinar que los valores



obtenidos por ambos métodos eran similares procedimos a continuar la medición de la concentración utilizando el fotómetro.

Las valoraciones de motilidad masal, motilidad individual, porcentaje de células vivas y muertas y porcentaje de anormalidades se realizaron de acuerdo a lo descrito por Gómez & Migliorisi (2001). La motilidad masal se obtuvo colocando 10µl de muestra en una lámina porta objetos temperada a 35°C sobre una placa térmica y observación directa al microscopio óptico. Se observó cada campo, evaluando la formación de ondas y dándole una calificación de 1 a 5; siendo 1 cuando no existe movimiento y 5 cuando las ondas formaban remolinos.

La motilidad individual se evaluó por medio de la observación de cada campo y la valoración de los espermatozoides que se movían en forma rectilínea progresiva, se consideró anormales aquellos espermatozoides que tenían movimientos oscilatorios o en círculos.

Para la evaluación de la morfología se procede a tomar una muestra de aproximadamente 10µl de semen y se la coloca sobre la punta de un porta objetos limpio, que debe estar a una temperatura de 36-37°C, sobre la muestra colocamos a su vez 30 µl de eosina-nigrosina que de igual manera debe encontrarse a la misma temperatura que el semen y procedemos a mezclar las dos sustancias por 20 segundos. Con la ayuda de otro porta objetos procedemos a realizar un frotis de la muestra. Una vez realizado este procedimiento podemos realizar la evaluación, misma que se fundamenta en que el colorante penetra la membrana de los espermatozoides muertos, dejando sin tinción a los vivos. Procedemos a observar el frotis a 400x y contar todos los espermatozoides de cada campo discriminando los teñidos como muertos y los que no tienen tinción como vivos. Se debe considerar el conteo de por lo menos 100 células y de allí podemos obtener el porcentaje. Se



considera como valor mínimo aceptable al 70% de células vivas.(Gomez & Migliorisi, 2001).

3.2.5 Variables en estudio

Valoración de comportamiento sexual

T1= 4 cobayos (machos) con espículas peneanas; estos fueron colocados cada uno con 5 hembras en jaulas separadas.

T2= 4 cobayos (machos) extirpados las espículas peneanas; estos fueron colocados cada uno con 5 hembras en jaulas separadas.

Porcentaje de preñez

T1= 4 cobayos (machos) con espículas peneanas; permanecieron en empadre con 5 hembras en jaulas separadas.

T2= 4 cobayos (machos) extirpados las espículas peneanas; permanecieron en empadre con 5 hembras en jaulas separadas.

Valoración espermática

T1= 5 cobayos (machos) con espículas peneanas.

T2= 5 cobayos (machos) extirpados las espículas peneanas.

3.2.6 Diseño experimental y análisis estadístico

Para el presente proyecto de investigación, se utilizó un diseño experimental, completamente al azar. Para el análisis del comportamiento sexual y fertilidad, se distribuyeron de forma aleatoria: T1= 4 cobayos machos con espículas peneanas + 20 hembras en jaulas separadas, T2= 4 cobayos machos extirpados las espículas peneanas + 20 hembras en jaulas separadas. Un macho entero y otro extirpado fueron excluidos de este procedimiento y mantenidos como sujetos de reemplazo en caso de que se produzca la muerte de algún cobayo durante el procedimiento.

JAULA 1 (T1)	JAULA 3 (T2)
JAULA 2 (T2)	JAULA 4 (T1)

JAULA 6 (T1)	JAULA 7 (T2)
JAULA 5 (T2)	JAULA 8 (T1)

Fig. 13. Distribución de las unidades experimentales para el análisis de comportamiento sexual y porcentaje de preñez.



Para el análisis de los valores espermáticos fueron incluidos todos los machos del experimento. Los dos cobayos de reemplazo formaron parte de este ensayo.

T1 5 cobayos enteros	T2 5 cobayos extirpados
-------------------------	----------------------------

Fig. 14. Distribución de las unidades experimentales para la valoración espermática.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico SPSS para Windows versión 22[®]. Se realizó la prueba de T de Student para muestras independientes, se evaluó la normalidad a través de la prueba de Shapiro -Wilk, para el análisis de homogeneidad de varianza se utilizó la técnica de Levene, todo con un nivel de significancia ($P < 0,05$). Se efectuó el análisis de medias repetidas con el factor días en los diferentes tratamientos y para cada una de las variables.

CAPITULO IV: RESULTADOS

4.1 Valoración del comportamiento sexual

El comportamiento sexual de los machos en los dos tratamientos en estudio, se determinó que los parámetros olfateos, mordiscos y montas fueron estadísticamente similares ($P>0,05$) sin embargo, el número promedio de acicalamientos fue mayor en el grupo de machos enteros en relación al grupo de extirpados ($P<0,05$). Como se registra en la figura 14.

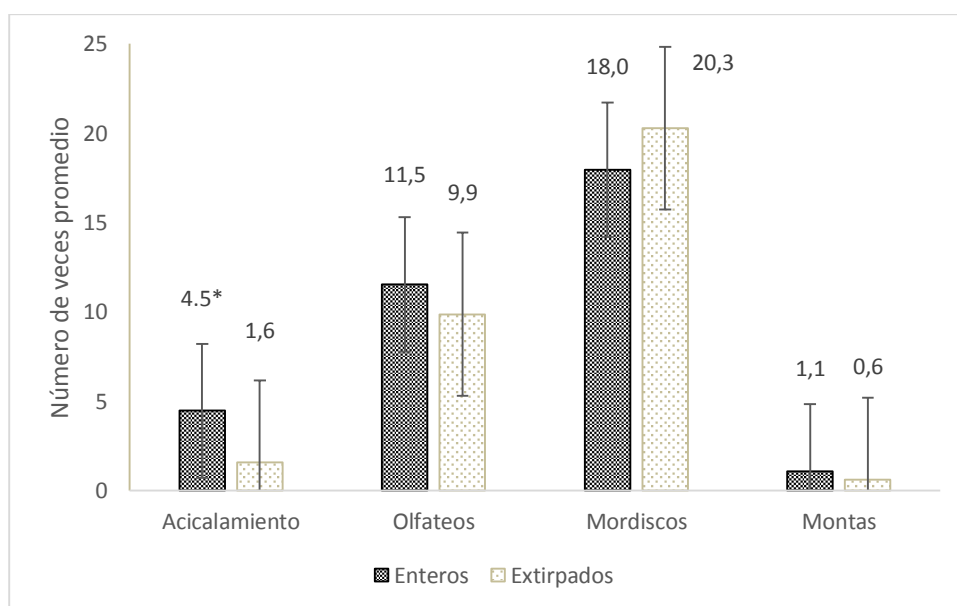


Fig. 14. Media del número de acicalamientos, olfateos, mordiscos y montas realizadas por los machos a sus compañeras de jaula en los dos tratamientos.

4.2 Valoración de fertilidad (porcentaje de preñez)

Los resultados obtenidos en la valoración de fertilidad fueron: 19 hembras que fueron copuladas por cobayos enteros quedaron preñadas, frente a 6 hembras gestantes que fueron cubiertas por los machos extirpados las espículas. Esto nos dio una diferencia estadística altamente significativa ($P<0,01$), entre los dos tratamientos. Con un porcentaje de preñez del 95% en los tratamientos con machos enteros, sobre apenas un 30% con machos extirpados. Véase figura 15.

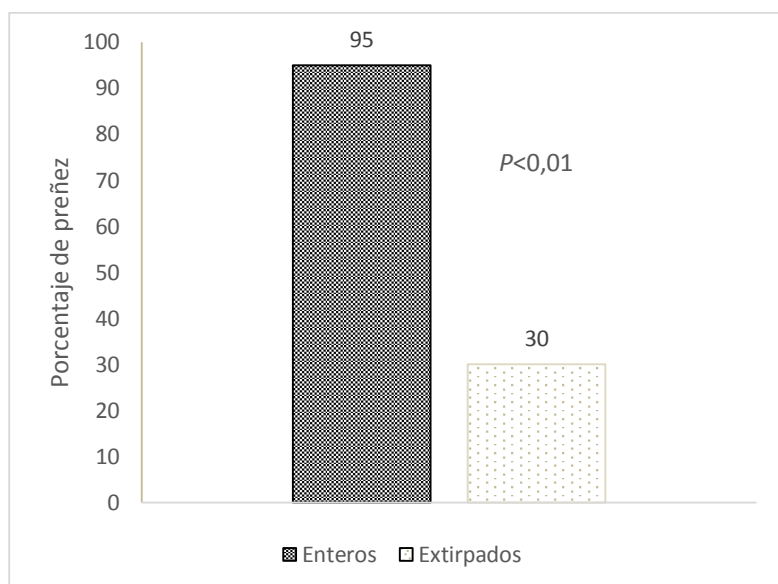


Fig. 156. Porcentaje de preñez de las hembras que fueron copuladas por los machos de los dos tratamientos.

Como complemento al análisis de preñez en la investigación, permitimos que las hembras de cada jaula conciban sus crías, para analizar el porcentaje de prolificidad por camada, para poder brindar una mayor significancia a la valoración de la fertilidad. De lo cual se estableció una media de $6,00 \pm 1,225$ crías por jaula, en los tratamientos con machos enteros frente a una media de $1,75 \pm 0,629$ crías en las jaulas con tratamientos con machos intervenidos, con un valor de ($P<0,05$), es decir una diferencia estadísticamente significativa.



4.3 Valoración de calidad espermática

El patrón de comportamiento de la calidad espermática en los dos tratamientos no difieren estadísticamente ($P>0,05$), sin embargo, estos se encuentran dentro de los rangos considerados normales para esta especie. Véase tabla 3.

Tabla 6. Media y error estándar de los parámetros de calidad espermática.

	N	Enteros		Extirpados		P
		Media	EE	Media	EE	
<i>Concentración</i>		418 x 10 ⁶	57 x 10 ⁶	342 x 10 ⁶	32 x 10 ⁶	0,29
<i>Motilidad Masal (1-5)</i>	5	3,4	0,24	2,8	0,20	0,09
<i>Motilidad Individual (%)</i>	5	58	5,39	55	2,24	0,62
<i>Vitalidad (%)</i>	5	60,2	4,02	54,2	8,09	0,53
<i>Morfología (%)</i>	5	62,8	2,89	63,4	2,66	0,88



CAPITULO V: DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran una influencia altamente significativa ($P<0,01$), de las espículas del cobayo sobre la fertilidad de las hembras copuladas por estos, es así que, el grupo control (hembras copuladas por machos enteros) tuvieron un porcentaje fertilidad del 95%, frente al 30% del tratamiento (hembras copuladas por machos que fueron extirpados las espículas). Existen trabajos como el de Ordoñez (2012) y Fernández (2010) que analizaron el porcentaje de preñez de las cobayas apareadas con machos enteros y establecieron valores promedios del 90% y 84,27% respectivamente lo cual se asemeja a los valores obtenidos con machos enteros en nuestra investigación.

De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo, podemos, correlacionar nuestros resultados, con publicaciones como la Stoddart (1979) que indica que estas espículas actúan como órganos sensitivos accesorios, provocando sensibilidad genital en el macho o pueden proporcionar un estímulo adicional para el tracto femenino provocando la ovulación. Spotorno, (1979), menciona que en especies de roedores de ovulación espontánea, no se ha considerado adecuadamente los mecanismos fisiológicos para la descarga preovulatoria de LH, por lo cual se sugiere que podría existir, un estímulo mecánico actuando a nivel de vagina y cérvix uterino.

Silva; *et al* (2013), en su investigación sugieren que las espículas peneanas, poseen dos funciones, la primera a estimular la vagina durante la copulación y promover los procesos neuroendocrinos que resultan en la ovulación y la segunda permite retirar los tapones vaginales mucosos, para poder realizar una fecundación con una



eyaculación subsiguiente, menciona además que siguen un patrón de desarrollo peri puberal y que son dependientes de andrógenos, lo que se demuestra por medio de la castración, que genera la regresión de estas estructuras, no obstante al ser aplicada testosterona de forma exógena, nuevamente se produce la recuperación de las mismas, indica además que cuando se produce la atrofia de las espinas peneanas, disminuye la sensibilidad táctil del glande, lo cual contribuye a una reducción en el comportamiento sexual masculino. Por lo tanto al haber sido extirpadas estas estructuras, disminuirá la capacidad del pene cobayo de estimular la vagina, que a su vez disminuirá la facultad ovulatoria de la hembra, viéndose reflejado con una fertilidad del 30% en cobayos extirpados las espículas frente a un 95% en los cobayos enteros ($P<0,01$).

La investigación permitió establecer que las espículas peneanas no influyen en el comportamiento sexual de los cobayos, a excepción del número de acicalamientos que si mostró diferencia entre grupos ($P<0,05$), esto podría ser explicado por la teoría de Manteca, (2009) quien manifestó que la conducta sexual en los roedores machos, se origina en el proceso de diferenciación sexual del sistema nervioso central, influenciado por la acción de las hormonas sexuales, este proceso ocurre en dos fases: en la primera los andrógenos actúan en la fase temprana de desarrollo, organizando rutas neuronales que serán las responsables de la conducta sexual. La segunda fase (activación) ocurre en la pubertad, permitiendo manifestar las características sexuales masculinas. Por lo tanto una vez alcanzada la madurez sexual, que en el caso del cobayo es a los 70 días, estarán establecidos los patrones de conducta sexual, que difícilmente pueden ser modificados, a no ser que sea un fuerte estímulo externo quien los altere, como por ejemplo la castración.



EL aumento significativo en el número de acicalamientos genitales ($P<0,05$), en el grupo de machos enteros frente a los machos extirpados se expresaría por un incremento en el estrés del grupo de animales intervenidos, debido a que fueron mayormente manipulados, para realizar el procedimiento quirúrgico. Según Lawrence & Rushen (1993), esto se originaría debido a la activación del sistema simpático y suprarrenal que genera la liberación de catecolaminas, que a su vez inducen la liberación de glucocorticoides que estarían interfiriendo en la respuesta sexual del macho, sobre el sistema hipotálamo hipófisis gónada.

Sin embargo esta respuesta no se ve reflejada posteriormente en la conducta reproductiva ya que el estímulo estresante que recibieron los cobayos no fue permanente y como lo explica en su publicación, Rivier & Rivest (1991), los efectos del estrés en las funciones reproductivas y los mecanismos que median estos efectos dependen del tipo, duración y frecuencia de los estímulos estresantes que tienen un impacto en el eje hipotálamo hipófisis gónada. En particular, la respuesta del sistema pituitario-testicular a los estímulos aversivos es potencialmente bifásica, con una fase estimuladora inicial y si el estrés es prolongado o de una magnitud suficiente, se podrá producir una fase inhibitoria posterior sobre la conducta reproductiva.

Por lo tanto al llevarse a cabo en nuestra investigación un procedimiento quirúrgico, que consistía en la extirpación de las espículas peneanas en los cobayos en estudio, era lógico conjeturar, que la misma intervención generaría una alteración en los niveles hormonales de los machos extirpados, que interferiría con el proceso espermatogénico normal de estos, todo esto mediado como se mencionó anteriormente por la liberación de glucocorticoides en sangre. No obstante al



analizar los valores espermáticos obtenidos de la cola del epidídimo de los cobayos en estudio se determinó que no existen diferencias estadísticas entre los dos grupos comparados ($P>0,05$). Esto se ajustaría a la publicación de Mcgrady, (1984), que menciona que tanto la inmovilización y el estrés quirúrgico produjeron una disminución en los niveles de testosterona, durante un período de ocho días además de un aumento en los niveles séricos de corticoesterona. Por lo tanto los cobayos no sufrieron un estímulo estresante lo suficientemente prolongado, ni agudo que interfiera sobre el proceso espermatogénico como tal, además al recibir un tiempo de recuperación postquirúrgico de 15 días, generó que los procesos fisiológicos testiculares se lleven con normalidad.



CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La extirpación de las espículas peneanas no influye sobre el comportamiento sexual del cobayo ya que este viene marcado por procesos de desarrollo y diferenciación sexual y se manifiesta gracias a estímulos externos, que no dependen de la presencia o no de las espículas peneanas.

Los valores espermáticos son similares en cobayos enteros y aquellos que fueron extirpados las espículas. Al ser intervenidos quirúrgicamente, los cobayos fueron sometidos a una estimulo estresante, lo cual suponía una disminución de su normal proceso de espermatogénesis, pero gracias a los datos obtenidos en este proyecto de investigación y corroborando con publicaciones como la de Mcgrady, (1984), se pudo determinar que dicho estímulo no era lo suficientemente prolongado ni agudo como para alterar este proceso.

De acuerdo a los resultados que obtuvimos en esta investigación podemos advertir que el porcentaje de preñez disminuye en un 65% en cobayas copuladas por machos intervenidos. De lo cual se puede concluir que dichas estructuras, al ser extirpadas no producen estimulación de la vagina, lo cual su vez disminuye la capacidad ovulatoria de la hembra, dando como resultado bajas tasas de preñez.

Esta investigación si bien nos permiten transpolar nuestros resultados a un escenario experimental, también brinda un gran abanico de posibilidades para nuevas investigaciones. Que pueden encaminarse a determinar el patrón de crecimiento de estas estructuras, en relación al nivel de hormonas sexuales. Así también se pueden enfocar en medir los niveles de hormonas sexuales de hembras



apareadas con machos extirpados las espículas, incluso determinar la tasa de ovulación de las hembras apareadas con estos individuos.

.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Àlvarez, I. (2010). Métodos de anestesia, analgesia y eutanasia . Madrid: COEDI.
- Àlvarez, L. (2008). Efectos Negativos del estrés sobre la reproducción en animales domésticos. Archivos de Zootecnia, 57(R),39-59.
- Apráez, J., Fernández, L., & Hernández, A. (2010). Efecto del sexo y de la castración en el comportamiento productivo y la calidad de la canal de cuyes (*Cavia porcellus*). Veterinaria y Zootecnia, 5(1),20-25.
- Aprioku, J., & Obianime, A. (2011). Structure Activity Relationship (SAR) of Artemisinins on some Biological Systems in Male Guinea Pigs. Insight Pharmaceutical Sciences, 1(1),1-10.
- Bignami, G., & Beach, F. (1968). Mating behavior in the Chinchilla. Animal Behavior, 16(1),45-53.
- Bishop, R. (2000). University of Bristol and University College Dublin. Dublin, Irlanda. Recuperado el 10 de 10 de 2015, de <http://137.222.110.150/Calnet/Exotics%20Atlas/page3.htm>.
- Bitzinger, N. (2008). Abdominale Sonographie beim Meerschweinchen (*Cavia aparea*. Porcellus 1758). Munich: Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Bland, K. (1980). Biphasic follicular growth in the guinea-pig oestrous cycle. Journal of Reproduction and Fertility, 60(1),73-76.
- Castel,Y.(2007).Wikipedia.https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Simplified_diagram_of_the_neurobiological_circuits_of_female_mammals_sexual_behavior.png
- Cohn, D., Tokumaru, R., & Ades, C. (2004). Female novelty and the courtship behavior of male guinea pigs (*Cavia porcellus*). Scielo, 37(6),847-851.
- Cole, F. (1987). On the Structure and Morpholgy of the intromittent Sac of the male Guinea-Pig. Journal of Anatomy and Physiology, 32(1),141-152.
- Cuenca. (2011). Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial. Cuenca: Ilustre Municipalidad de Cuenca.
- Chauca, L. (1997). Producción de cuyes (*Cavia porcellus*). Lima: Food & Agriculture Org.
- Deanesly, R. (1966). Pro-oestrus in the Guinea Pig: hormonal stimulation of the vaginal epithelium. Journal of Reproduction and Fertility, 12(1),205-212.



- Domingo, C., Purrington, T., Press, A., & Li, X. (2010). Sperm collection and cryopreservation. *Mutagenetix*, 1-12.
- Doty, R. (1976). *Mammalian Olfaction, Reproductive Processes, and Behavior*. Londres: Academic Press.
- Fernández, J. (2010). Tamaño y peso de camada en cuyas criollas servidas por machos de razas mejoradas en el distrito de Huarango, San Ignacio, Cajamarca. Lambayeque: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- Florin, S. (2015). Anatomical Particularities of Male Reproductive System of Guinea Pigs (*Cavia porcellus*). *Bulletin University of Agricultural Sciences*, 72(2), 288-295.
- Freund, M. (1969). Interrelationships Among the Characteristics of Guinea-Pig Semen Collected by Electro-ejaculation. *Journal of Reproduction*, 19(3), 393-403.
- Gay, W. (1986). *Methods of animal experimentation*. Orlando: Academic Press.
- Girling, S. (2013). *Veterinary Nursing of Exotic Pets*. United Kingdom: Wiley-Blackwell.
- Gomez, M., & Migliorisi, L. (2001). Protocolo para la evaluación de semen en rumiantes. Córdoba, Córdoba, Argentina.
- Gregorie, A., Joly, T., Huaman, E., Silva, R., & León, S. (2005). Crioconservación de los recursos genéticos del cuy (*Cavia porcellus*): producción y congelación de embriones. *Bulletin de l'Institut français d'études andines*, 39(1), 185-188.
- Hossain, M., & O'shea, J. (1983). The vascular anatomy of the ovary and the relative contribution of the ovarian and uterine arteries to the blood supply of the ovary in the guinea-pig. *Journal of Anatomy*, 137(3), 457-466.
- Hull, E., & Dominguez, J. (2007). Sexual behavior in male rodents. *Hormones and Behavior*, 52(1) 45-55.
- Ishii, O. (1920). Observations on the Sexual Cycle of the Guinea Pig. *Marine Biological Laboratory*, 38(4), 237-250.
- Kaufmann, P., & Davidoff, M. (2012). *Advances in Anatomy, Embryology and Cell Biology The Guinea-Pig Placenta*. Wurzburg: Springer Science & Business Media.
- Lawrence, A., & Rushen, J. (1993). *Stereotypic Animal Behaviour: Fundamentals and Applications to Welfare*. Londres: CABI.



- Lewis, E., Carlson, M., & Hoberman, A. (2013). Reproductive and Developmental Assessments The Guinea Pig (*Cavia Porcellus*). *Reproductive Toxicology*, 41,21-34.
- MAGAP. (2014). Manual de Crianza y producción de cuyes con estándares de calidad. Quito: MAGAP.
- Manteca, X. (2009). *Etología Veterinaria*. México: Multimédica Ediciones Veterinarias.
- Marquez, N., Valencia, R., Chauca, L., & Torres, L. (2008). "Descripción Anatómica del Glande del Cuy (*Cavia porcellus*) raza Perú. Asociación Peruana de Producción Animal, 15.
- McGrady, A. (1984). Effects of Psychological stress on male reproduction: a review. *Archives of Andrology*, 13, 1-7.
- Miller, A., & Richardson, C. (2011). Rodent Analgesia. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 14(1),81-92.
- Mudarra, I. (11 de Noviembre de 2011). *Guía Anestesia y Analgesia en Cobayas*. Elche, Alicante, España.
- Noonan, D. (1994). *the guinea pig (cavia porcellus)*. Australia: ANZCCART.
- Nunez, A., Gouveia, B., Matos, M., Pires, I., Franzo, V., Faria, M., y otros. (2013). Análise morfológica e funcional do processo espermatogênico em cobaios (*Cavia porcellus*) da pré-puberdade até a pós-puberdade. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(1),1-7.
- Olfert, E., Cross, B., & McWilliam, A. (1998). *Manual sobre el cuidado y uso de los animales de experimentación*. Ontario: Canadian Council on Animal Care.
- Ordoñez, S. (2012). *Utilización de diferentes niveles de harina de maralfalfa en reemplazo de la alfarina en la alimentación de cuyes manejados en jaulas en las etapas de gestacion –lactancia, crecimiento-engorde*. Riobamba: Escuela Superior Politecnica del Chimborazo.
- Pajares, C. (2009). *Reproducción y Manejo Reproductivo en Cuyes (cavia porcellus)*. Cajamarca: Sirivs.
- Palma, G. (2001). *Biotecnología de la Reproducción*. Buenos Aires: Paraíso.
- Perkins, S. (2005). Johns Hopkins University. Recuperado el 05 de junio de 2015, de [www.jhu.edu: http://web.jhu.edu/animalcare/procedures/survival-rodents.html#animal_preop](http://web.jhu.edu/animalcare/procedures/survival-rodents.html#animal_preop).



- Rivier, C., & Rivest, S. (1991). Effect of Stress on the Activity of the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis: Peripheral and Central Mechanisms. *Biology of reproduction*, 45(4),523-532.
- Rodríguez, H., Kass, L., Varayoud, J., Ramos, J., Ortega, H., Durando, M., y otros. (2013). Collagen remodelling in the guinea-pig uterine cervix at term is associated with a decrease in progesterone receptor expression. *Molecular Human Reproduction*, 9(12),807-813.
- Rodríguez, R., & Wettstein, R. (2004). Quantitative Study on Guinea Pig Spermatogenesis Shows a Relative High Percentage of Early Meiotic Prophase Stages. *The Anatomical Record Part A Discoveries in molecularCellular an Evolutionary Biology*, 278A(1),493-504.
- Rodríguez-Casuriaga, R. (2011). Análisis de la espermatogénesis del cobayo mediante citometría de flujo,y desarrollo de un método de purificación de células en profase meiótica temprana. Montevideo: IIBCE.
- Roy, M., Goldstein, K., & Williams, C. (1993). Estrus termination following copulation in female Guinea pigs. *Hormones and Behavior*, 27(3),397-402.
- S.E.A. (2005). Anestesia en Roedores. Madrid: HCV-UCM.
- Sánchez, X., Barrera, S., Orozco, T., Torres, S., & Monsivals, R. (2007). Parámetros productivos de cuyes (*Cavia Porcellus*) del nacimiento al sacrificio en Nayarit México. *Abanico Veterinario*, 3(1),36-46.
- Silva, M., Vigueras, R., Vetana, S., Hernández, M., Bonilla, H., Guzmán, X., y otros. (2013). Testosterone Levels and Development of the Penile Spines and Testicular Tissue during the Postnatal Growth in Wistar Rats. *Advances in Sexual Medicine*, 3, 1-9.
- Spotorno, A. (1979). Contrastación de la macrosistemática de roedores caviomorfos por análisis comparativo de la morfología reproductiva masculina. *Archivos de Biología Médica*, 12, 97-106.
- Stoddart, D. (1979). The copulatory pattern of the Bank vole (*Clethrionomys glareolus*) and speculation on the role of penile spines. *Notes From Mammal Society*, 188(2),279-300.
- Suckow, M., Weisbroth, S., & Franklin, C. (2005). *The Laboratory Rat*. San Diego: Academic Press.
- Sztein, J. (2013). Criopreservación de esperma. *Colony Management and Research Support*, 35, 46-52.



- Tribulo, H., Barth, A., & Brogliatti, B. (27 de 10 de 2011). Evaluación de la aptitud reproductiva del toro. Cordova, Córdoba, Argentina.
- Turner, T., & Reich, G. (1985). Cauda Epididymidal Sperm Motility: A Comparison Among Five Species. *Biology of reproduction*, 32(1),120-128.
- Vanda-Cantón, B. (2003). La experimentación biomédica en animales en los códigos bioéticos. *Laborat*, 15(2),69-73.
- Vásquez, B., & Del Sol, M. (2010). Estudio Morfológico de la Próstata y Glándulas Vesiculares de Cobayo (*Cavia porcellus*). *International Journal of Morphology*, 28(4)1301-1307.
- Vivas, J., & Carballo, D. (2009). *Especies Alternativas: Manual de crianza de cobayos (Cavia porcellus)*. Managua: UNA.
- Wagner, J. (2014). *The Biology of the Guinea Pig*. New York: Academic Press.
- wordpress.org. (s.f.). <http://ourteam.biz/tag/internal-anatomy-of-a-female-pig>.
- Yanagimachi, R., & Mahi, C. (1976). The sperm acrosome reaction and fertilization in the guinea pig : a study in vivo. *The Journal of Society for Reproduction And Fertility*, 46(1),49-54.



ANEXOS

Anexo 1. Datos de comportamiento sexual jaula 1.

JAULA 1 (T1)									
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8	Total
Número de acalamientos genitales	20	10	7	3	1	1	0	0	42
Número de olfateos	16	15	5	7	10	7	3	8	71
Número de mordisqueos	26	19	20	15	10	7	2	9	108
Número de montas	3	2	1	1	1	3	0	0	11

Anexo 2. Datos de comportamiento sexual jaula 4.

JAULA 4 (T1)									
	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5	DÍA 6	DÍA 7	DÍA 8	TOTAL
Número de acalamientos genitales	12	5	4	2	2	1	0	0	26
Número de olfateos	22	20	30	26	19	15	10	5	147
Número de mordisqueos	19	25	33	31	25	20	14	14	181
Número de montas	1	2	1	2	1	1	1	0	9

Anexo 3. Datos de comportamiento sexual jaula 6.

JAULA 6 (T1)									
	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5	DÍA 6	DÍA 7	DÍA 8	TOTAL
Número de acalamientos genitales	21	10	5	2	4	1	0	0	43
Número de olfateos	7	2	7	10	10	5	4	0	45
Número de mordisqueos	22	15	17	21	19	15	10	9	128
Número de montas	1	1	0	2	2	1	1	0	8

Anexo 4. Datos de comportamiento sexual jaula 8.

JAULA 8 (T1)									
	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5	DÍA 6	DÍA 7	DÍA 8	TOTAL
Número de acalamientos genitales	17	10	3	1	1	0	0	0	32
Número de olfateos	17	7	21	19	15	10	6	11	106
Número de mordisqueos	24	21	24	25	23	15	13	13	158
Número de montas	3	2	0	0	1	1	0	0	7



Anexo 5. Datos de comportamiento sexual jaula 2.

JAULA 2 (T2)									
	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5	DÍA 6	DÍA 7	DÍA 8	TOTAL
Número de acicalamientos genitales	6	3	0	1	0	0	0	0	10
Número de olfateos	12	16	11	10	8	5	3	4	69
Número de mordisqueos	15	20	31	36	32	20	11	15	180
Número de montas	1	1	1	0	0	0	0	0	3

Anexo 6. Datos de comportamiento sexual jaula 3.

JAULA 3 (T2)									
	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5	DÍA 6	DÍA 7	DÍA 8	TOTAL
Número de acicalamientos genitales	6	4	1	1	1	1	0	0	14
Número de olfateos	9	10	16	19	10	2	0	2	68
Número de mordisqueos	11	12	20	19	15	11	10	10	108
Número de montas	1	1	0	7	0	0	0	0	9

Anexo 7. Datos de comportamiento sexual jaula 5.

JAULA 5 (T2)									
	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5	DÍA 6	DÍA 7	DÍA 8	TOTAL
Número de acicalamientos genitales	7	4	2	2	1	0	0	0	16
Número de olfateos	10	19	29	27	20	2	10	1	118
Número de mordisqueos	15	27	36	41	32	22	15	20	208
Número de montas	2	2	0	0	0	0	0	0	4

Anexo 8. Datos de comportamiento sexual jaula 7.

JAULA 7 (T2)									
	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5	DÍA 6	DÍA 7	DÍA 8	TOTAL
Número de acicalamientos genitales	5	2	1	2	1	0	0	0	11
Número de olfateos	7	10	15	13	7	4	3	2	61
Número de mordisqueos	20	20	20	27	27	17	12	10	153
Número de montas	2	2	0	0	0	0	0	0	4



Anexo 9. Registro de gestaciones y crías nacidas.

REGISTRO DE GESTACIONES Y CRÍAS NACIDAS					
JAULAS	gestantes	vacías	vivas	nº de crías muertas	total
jaula 1 (t1)	5	0	7	2	9
Jaula2 (t2)	2	3	2	0	2
Jaula3 (t2)	3	2	2	0	2
Jaula4 (t1)	5	0	6	0	6
jaula 5 (t2)	1	4	3	0	3
jaula 6 (t1)	4	1	5	1	6
jaula 7(t2)	0	5	0	0	0
jaula 8 (t1)	5	0	3	0	3

Anexo 10. Espermiogramas de cobayos enteros.

Espermiograma de cobayos enteros							
	CONCENTRACIÓN	MOTILIDAD MASAL	MOTILIDAD INDIVIDUAL %	% VIVOS	% MUERTOS	MORFOLOGIA (% NORMALES)	MORFOLOGIA (% ANORMALES)
T1	1 268000000	3	50	45	55	60	40
	2 418000000	3	75	68	32	70	30
	3 596000000	4	65	65	35	60	40
	4 485000000	4	55	60	40	55	45
	5 326000000	3	45	63	37	69	31



Anexo 11. Espermigramas de cobayos extirpados.

Espermograma de cobayos extirpados

	CONCENTRACIÓN	MOTILIDAD MASAL	MOTILIDAD INDIVIDUAL %	% VIVOS	% MUERTOS	MORFOLOGIA (% NORMALES)	MORFOLOGIA (% ANORMALES)
T2	1 368000000	2	50	35	65	55	45
	2 245000000	3	60	57	43	60	40
	3 427000000	3	60	77	23	67	33
	4 296000000	3	55	65	35	65	35
	5 378000000	3	50	37	63	70	30



Anexo 12. Matriz para el registro de conducta sexual de cobayos.

REGISTRO DE CONDUCTAS SEXUALES EN COBAYOS												
TRATAMIENTO (T1)	JAULA		FECHA									
CATEGORIA	REPETICIONES											
# de acicalamientos genitales	día				día							
	día				día							
# olfateos	día				día							
	día				día							
# de mordisqueos	día				día							
	día				día							
# montas	día				día							
	día				día							



Anexo 13. Matriz para el registro de gestaciones.

REGISTRO DE HEMBRAS GESTANTES			
JAULA #		FECHA	
T2	GESTANTES		VACÍAS
# HEMBRAS			

Anexo 14. Matriz para el registro de valores seminales.

Espermiograma de cobayos _____								
tratamiento		CONCENTRACIÓN	MOTILIDAD MASAL	MOTILIDAD INDIVIDUAL %	% VIVOS	% MUERTOS	MORFOLOGÍA (% NORMALES)	MORFOLOGÍA (% ANORMALES)
	1							
	2							
	3							
	4							
	5							



Anexo 15. Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra (comportamiento sexual).

		NUMERO DE ACICALAMIENT OS GENITALES	NUMERO DE OLFATEOS	NUMERO DE MORDISQUEOS	NUMERO DE MONTAS
N		64	64	64	64
Parámetros normales ^{a,b}	Media	3,0313	10,7031	19,1250	,8594
	Desviación estándar	4,65293	7,32398	7,90318	1,18009
Máximas diferencias extremas	Absoluta	,260	,163	,121	,251
	Positivo	,260	,163	,121	,251
	Negativo	-,257	-,072	-,069	-,233
Estadístico de prueba		,260	,163	,121	,251
Sig. asintótica (bilateral)		,000 ^c	,000 ^c	,021 ^c	,000 ^c

a. La distribución de prueba es normal.

b. Se calcula a partir de datos.

c. Corrección de significación de Lilliefors.

Anexo 16. Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra (fertilidad y prolificidad).

		Preñez	Crías
N		8	8
Parámetros normales ^{a,b}	Media	62,5000	,7750
	Desviación estándar	39,18819	,58002
Máximas diferencias extremas	Absoluta	,206	,244
	Positivo	,169	,244
	Negativo	-,206	-,143
Estadístico de prueba		,206	,244
Sig. asintótica (bilateral)		,200 ^{c,d}	,179 ^c

a. La distribución de prueba es normal.

b. Se calcula a partir de datos.

c. Corrección de significación de Lilliefors.

d. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.



Anexo 17. Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra (valoración espermática).

		CONCENTRACIÓN	MOTILIDAD MASAL	MOTILIDAD INDIVIDUAL %	% VIVOS	% MUERTOS	MORFOLOGIA (% NORMALES)	MORFOLOGIA (% ANORMALES)
N		10	10	10	10	10	10	10
Parámetros normales ^{a,b}	Media	380700000,00	3,10	56,50	57,20	42,80	63,10	36,90
	Desviación estándar	106571884,973	,568	8,835	13,831	13,831	5,859	5,859
Máximas diferencias extremas	Absoluta	,132	,370	,169	,194	,194	,202	,202
	Positivo	,132	,370	,169	,128	,194	,202	,147
	Negativo	-,101	-,330	-,131	-,194	-,128	-,147	-,202
Estadístico de prueba		,132	,370	,169	,194	,194	,202	,202
Sig. asintótica (bilateral)		,200 ^{c,d}	,000 ^c	,200 ^{c,d}	,200 ^{c,d}	,200 ^{c,d}	,200 ^{c,d}	,200 ^{c,d}

a. La distribución de prueba es normal.

b. Se calcula a partir de datos.

c. Corrección de significación de Lilliefors.

d. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

Anexo 18. Instrumental quirúrgico.



Anexo 19. Balanza.



Anexo 20. Pesaje de cobayos.



Anexo 21. Anestésico Zoletil 50 ®.



Anexo 22. Dosificación de anestésico.



Anexo 23. Aplicación subcutánea de anestésico.



Anexo 24. Depilación de la zona a intervenir.



Anexo 25. Preparación de campos quirúrgicos.



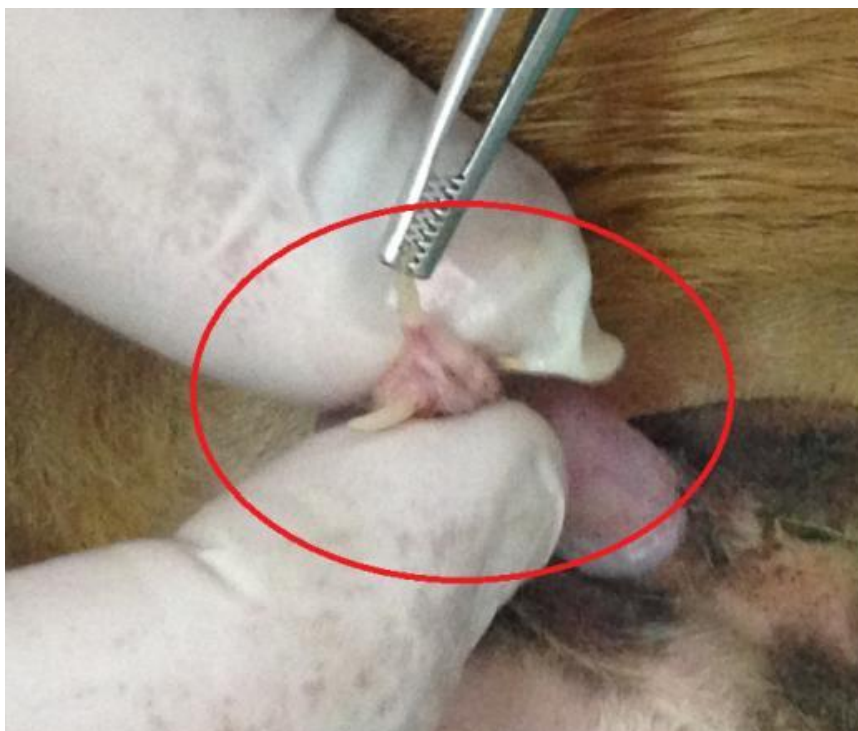
Anexo 26. Embrocado de la zona a intervenir.



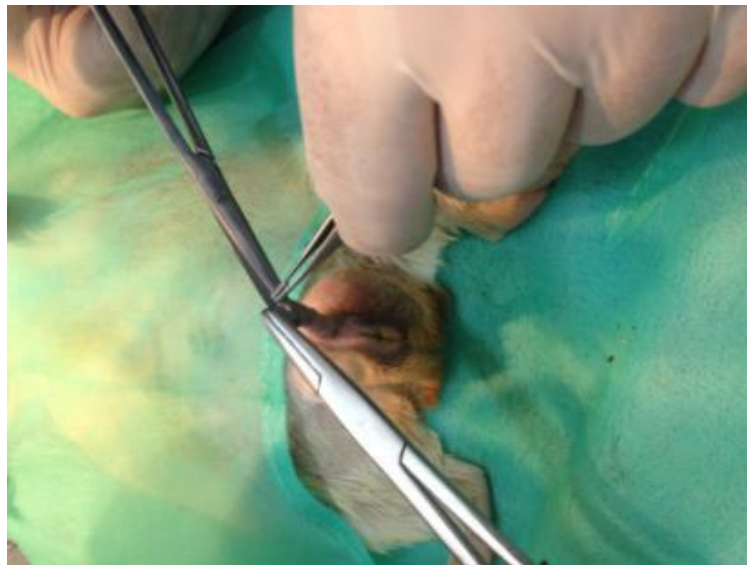
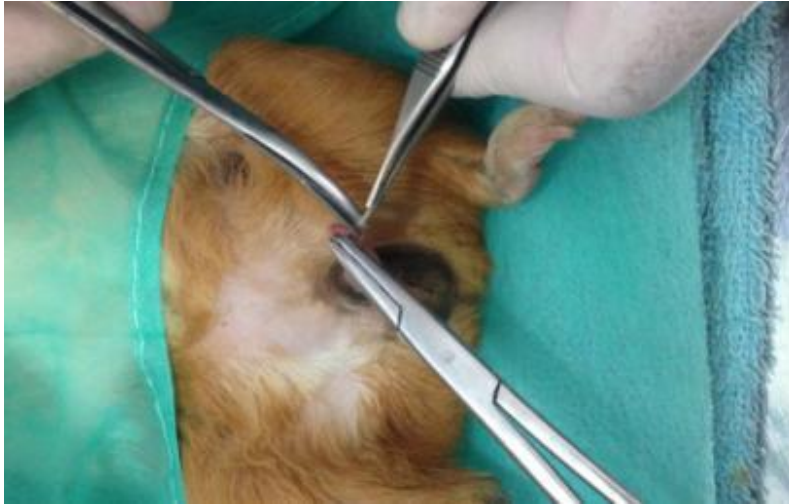
Anexo 27. Exposición del pene.



Anexo 28. Exposición de las espículas.



Anexo 29. Extirpación de las espículas.



Anexo 30. Retorno del pene a su posición anatómica.



Anexo 31. Postoperatorio de los cobayos.



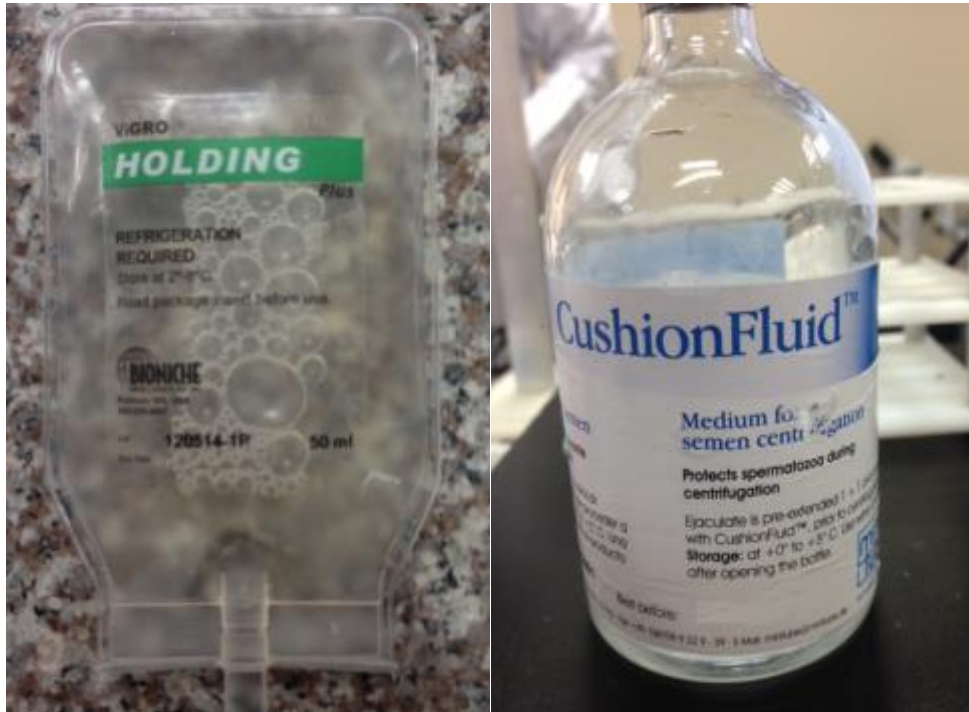
Anexo 32. Jaulas de madera para alojamiento de unidades experimentales.



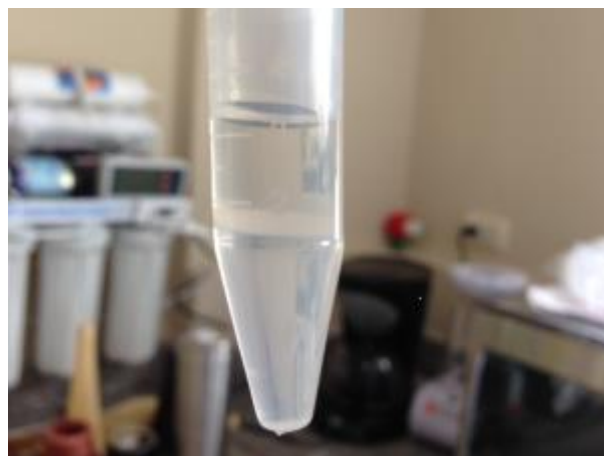
Anexo 33. Distribución aleatoria de las unidades experimentales en las jaulas.



Anexo 34. Medios para la conservación y centrifugación de espermatozoides.



Anexo 35. Muestra espermática y solución Cushion fluid ®.



Anexo 36. Centrifuga con muestras espermáticas.



Anexo 37. Fotómetro SDM 1, minitube.



Anexo 38. Análisis de motilidad masal.



Anexo 39. Análisis de motilidad individual.

